RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. IX - N. 2 - Giugno 1948

DESCRIZIONE DI UNA NUOVA FILARIA, *LITOMOSA OTTAVIANII* LAGRANGE E BETTINI, 1948, PARASSITA DI PIPISTRELLI (*)

Dr. EMILE LAGRANGE
Chargé de recherches de
l'I. R. S. I. A., Bruxelles

Dr. SERGIO BETTINI
Istituto Superiore di Sanità
Laboratorio di Malariologia
Capo: Prof. A. Missiroli

Nel 1873, P. J. VAN BENEDEN (8) indirizzò all'Accademia delle Scienze del Belgio una memoria illustrata di 40 pagine sui pipistrelli del Belgio. Riferendosi a KOLENATI per la descrizione dei parassiti esterni, egli si occupò principalmente dello studio dei vermi intestinali. Egli descrive in particolare come nuova specie un piccolo nematode filiforme di cui egli ha trovato un solo esemplare maschio nello stomaco del *Vespertilio auritus*. Egli ne da una descrizione sommaria, ne disegna la coda e gli spiculi del maschio, e lo chiama *Litosoma filaria*.

Nel 1921, SEURAT (5) ritrova le filarie del pipistrello e le descrive per la prima volta. Egli segnala che esse sono state osservate per la prima volta da RUDOLPHI e da DUJARDIN; ma la descrizione di questi AA. non gli permette di stabilire se la *Filaria vespertilionis* RUDOLPHI corrisponda alla *Litosoma filaria* BENEDEN. Perciò SEURAT riprende il nome dato da VAN BENEDEN. Si potrebbe ammettere, secondo SEURAT, che la filaria sia sfuggita a VAN BENEDEN nella cavità peritoneale e che essa sia stata portata dall'A. nella capsula ove ha lavato lo stomaco per esaminarne i parassiti; ma basta paragonare i disegni degli spiculi, riportati dai due AA., per poter affermare che i due vermi sono totalmente differenti.

(*) Questo lavoro è stato in gran parte realizzato grazie ad una sovvenzione dell'I.R.S.I.A. e dell'Union Chimique Belge, presso l'Istituto Superiore di Sanità, e l'Istituto di Anatomia umana dell'Università di Sassari.

YORKE e MAPLESTONE (10) nel loro trattato, avendo notato che il nome generico di *Litosoma* era già occupato, lo modificano in *Litomosa* e lo conservano (abusivamente a nostro avviso) per la filaria del pipistrello. La filaria osservata da SEURAT, e forse da RUDOLPHI, rassomiglia certamente a quella che noi abbiamo trovato abbondantemente in Sardegna, grazie alla cortesia del Prof. OTTAVIANI, Direttore dell'Istituto di Anatomia Umana Normale dell'Università di Sassari.

In una grotta nelle vicinanze di Sassari, si trovano migliaia di pipistrelli: rari *Plecotus* e *Rhinolophus*, numerosi *Miniopterus schreibersi* e innumerevoli *Vespertilio murinus*. Questi ultimi sono poco infestati di filarie. I *Miniopterus*, invece, raccolti nella stessa località, erano infestati di filarie adulte in ragione del 34,3 %, ossia 89 su 260 esemplari che noi abbiamo sacrificato nel corso di esperienze terapeutiche (2).

Le filarie si trovano nella cavità peritoneale con localizzazioni le più diverse. Alcune di esse, sia maschi che femmine, sembrano fissati profondamente per mezzo di una delle loro estremità nel fegato, mentre altre si trovano anche nel piccolo bacino. Il numero dei parassiti varia da uno a 13 per soggetto. In molti esemplari abbiamo trovato femmine adulte isolate, non fecondate, con le uova arrestate nello sviluppo allo stadio di morula. Nel complessó, la proporzione di maschi è minore di quella delle femmine (40 maschi e 55 femmine).

In un piccolo numero di casi abbiamo paragonato il sangue prelevato da un'ala, dal cuore, dal polmone e dal fegato, dal punto di vista dell'abbondanza delle microfilarie. Nel sangue del fegato esse sono state rinvenute con maggior frequenza. I prelevamenti sono stati effettuati sempre nelle ore diurne. Il Prof. OTTAVIANI ha osservato più volte delle microfilarie che passavano nei vasi linfatici del mesentere.

Resta a sapere, tuttavia, se le microfilarie osservate in circolo siano proprio quelle della *Litomosa*. Infatti, abbiamo notato sul patagio auricolare di numerosi esemplari di *Vespertilio* e di *Miniopterus* delle piccole cisti, la dis-

---

Spiegazione delle Figg. 1, 2, 3:

1) I due tratti corrispondono alla lunghezza media del verme maschio e della femmina, divisi in regioni.
2) Maschio: Particolari delle dimensioni dei vari organi del verme maschio a livello delle sue regioni (*). Rapporti di larghezza fra strato muscolare con trattini longitudinali), intestino (in nero pieno) e testicolo (punteggiato). La regione *G* mostra, sulla regione cuticolare sinistra, una serie di « spine ». La regione *E* è stata suddivisa in due (E_1 ed E_2) per la notevole differenza di larghezza degli organi fra la parte superiore e quella inferiore della stessa regione.
3) Maschio. Regione *A* (a breve distanza dall'estremità cefalica): mostra l'inizio del testicolo ed il passaggio fra esofago ed intestino.

(*) Le lettere corrispondono alle suddivisioni in Fig. 1.

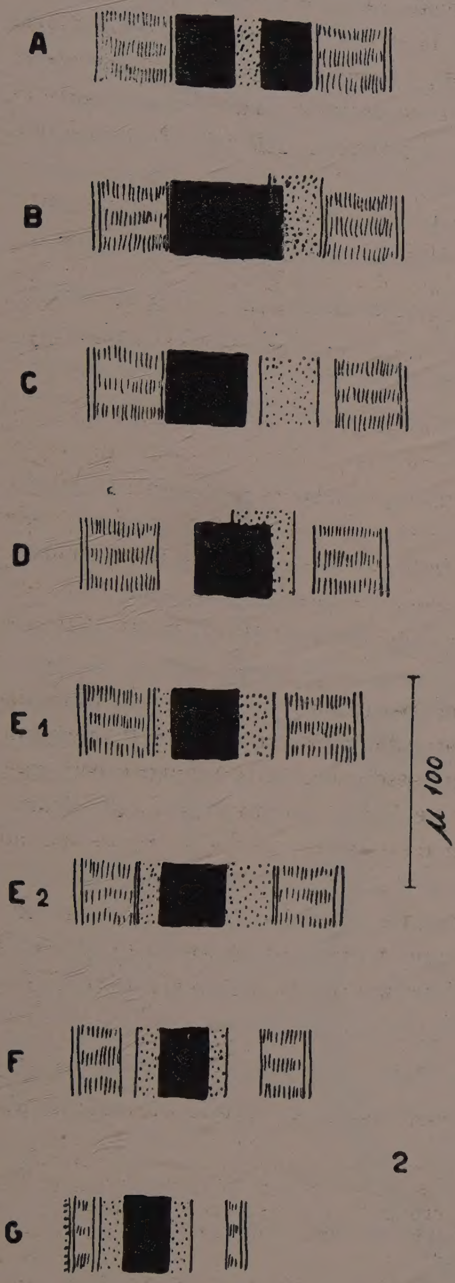


Fig. 2.

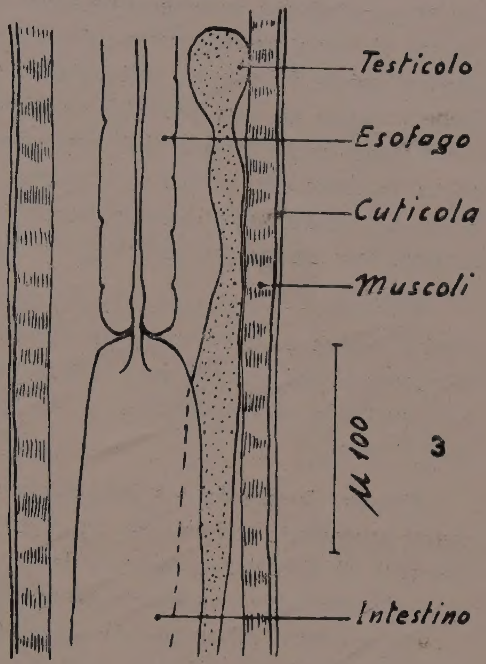


Fig. 3.

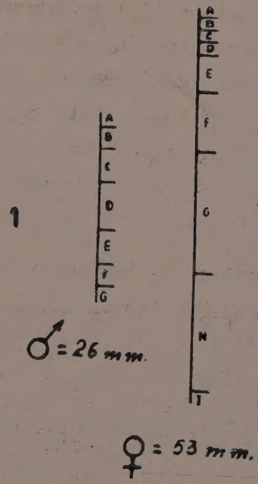


Fig. 1.

sezione a fresco delle quali ci ha mostrato dei piccoli nematodi. Alcuni di essi erano femmine gravide nelle quali si distingueva, a fresco, un brulicare intenso di larve. Questi vermi sono già stati visti da KOLENATI che ne ha citato tre specie del tessuto sottocutaneo di diversi pipistrelli; e sono stati segnalati inoltre, se non descritti, da DIESING, RUDOLPHI e dallo stesso REDI.

Avendo notato alcune differenze fra la descrizione della della *Litomosa filaria* BENEDEN del SEURAT e le nostre osservazioni, ed avendo rilevato dei particolari morfologici interessanti finora non descritti, abbiamo creduto opportuno fare un quadro completo, su molti esemplari, della filaria in oggetto.

Materiale. — Abbiamo compiuto le nostre osservazioni su più di 20 esemplari femmine e su 30 esemplari maschi, di cui sono stati allestiti preparati microscopici. Gli elminti sono stati fissati, al momento del loro rinvenimento nel pipistrello, in formalina al 10 % e poi conservati in formalina al 2 % per circa 6 mesi.

Metodo di studio. — Le filarie, in gran parte sono state montate senza precedente colorazione in « glychrogel » (*) (secondo la formula di YETWIN) (9) abbastanza caldo sì da essere fluido. I preparati, lasciati raffreddare a temperatura ambiente, erano pronti per l'osservazione dopo 24 ore.

Per colorare gli esemplari abbiamo provato l'eosina, il verde di metile, il rosso carminio alcoolico ed il Giemsa. Ma nessuno di questi metodi ha dato risultati soddisfacenti. Mentre i vermi frammentati si sono colorati rapidamente in seguito all'azione diretta del colorante sugli organi interni, i coloranti hanno dovuto agire a lungo per poter attraversare lo strato cuticolo-muscolare; ed in seguito abbiamo dovuto decolorare questo strato con alcool a 50 %, per renderlo trasparente.

L'anatomia degli organi interni perciò è stata studiata attraverso la cuticola e lo strato muscolare oppure in preparati ove gli organi interni erano fuoriusciti dal corpo del verme per erniazione o per rottura completa di esso.

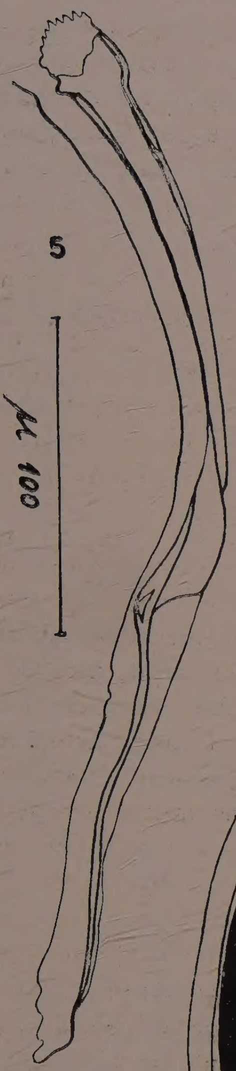
Non è stato possibile effettuare la dissezione degli esemplari in quanto questi, già da tempo fissati, non si prestavano all'operazione.

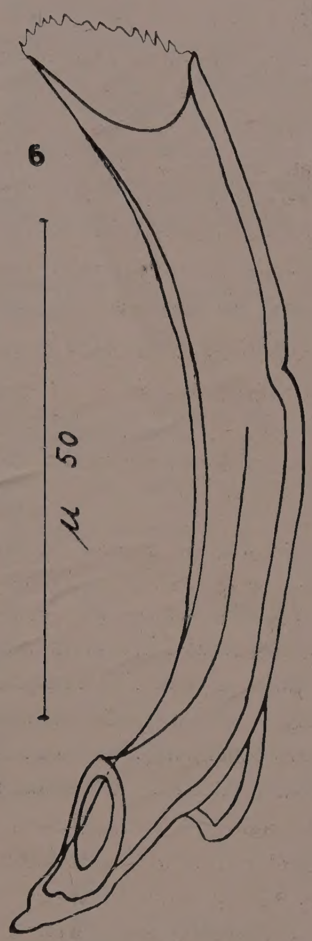
Misurazioni. — Le misure piccole sono state calcolate con l'oculare micrometrico, mentre per la lunghezza dei vermi abbiamo seguito il metodo di

(*) Gelatina granulare 10 %, 150 cc.
Glicerina pura, 50 cc.
Solfato di cromio e di potassio 1 % (granulare), 100 cc.
Fenolo liquido, 1 cc.

Spiegazione delle Figg. 4, 5, 6:

4) Maschio: Regione caudale con spiculi (non è stata riportata la membrana dello spiculo sinistro), diramazione del testicolo, intestino e cloaca.
5) Spiculo sinistro, con membrana.
6) Spiculo destro.





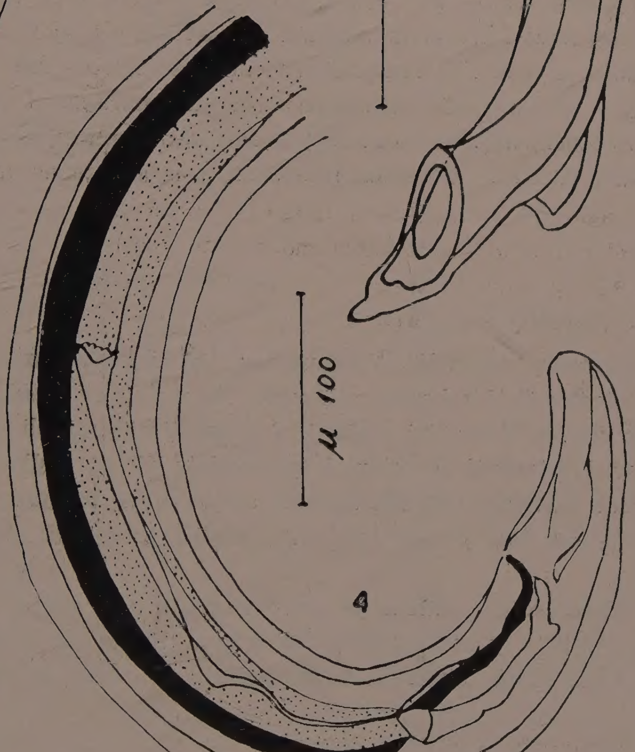


Fig 5.

Fig. 6.

Fig. 4.

Cross e Scott (3) (proiezione del verme montato su vetrino, a mezzo di una comune lanterna da proiezioni su uno schermo ove il contorno del verme è stato disegnato e poi misurato). Sul vetrino portaoggetto è stata segnata la distanza di un centimetro che è servita di proporzione alla figura proiettata. Dato che i valori delle misurazioni hanno oscillato entro limiti piuttosto ampi, abbiamo creduto utile calcolare, per avere dei risultati più esatti, l'errore medio probabile delle varie medie.

L'errore medio probabile è stato calcolato secondo la seguente formula riportata da Archetti e Babudieri (1):

$R = A \pm (m \pm ml)$, dove $m = \frac{\mu}{\sqrt{n}}$ e $ml = \frac{m}{\sqrt{2n}}$. A sua volta $\mu = \sqrt{\frac{(x^2)}{n-1}}$

R = risultato vero;
A = media aritmetica delle osservazioni.
m = errore medio del risultato;
ml = errore medio degli errori medi;
μ = errore medio delle osservazioni;
n = numero delle osservazioni;
x = distacco delle singole osservazioni da A.

Illustrazioni. — Per i disegni, eseguiti da uno di noi (Bettini), abbiamo adottato come linea di massima il tipo d'illustrazioni riportate nel loro lavoro da Cross e Scott. Ci siamo serviti di una serie di microfotografie per riprodurre i caratteri degli embrioni e di altri particolari troppo complicati per essere fedelmente disegnati e per mostrare come veramente appaiono certe delicate strutture d'interesse sistematico e generale.

MORFOLOGIA

Caratteri generali. — Femmina: La lunghezza media è di mm. 53,2 ± 1,6, mentre la larghezza, nel punto di massimo spessore del verme, e cioè nelle regioni F-G, e di μ 222 ± 2. I caratteri generali sono quelli delle *Filariinae.* L'estremità anteriore è arrotondata e circa della stessa larghezza della regione contigua. La coda termina assottigliata, leggermente ripiegata ventralmente, con due gruppi di papille caudali, terminali, che descriveremo in seguito.

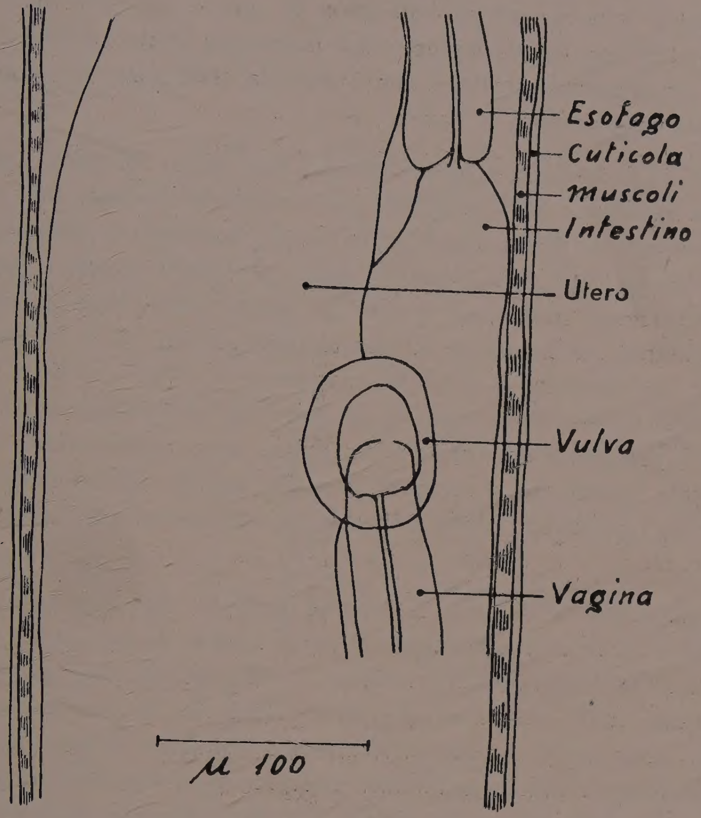
Maschio: Il maschio è invece molto più corto, misurando solo mm. 26,8 ± 6,88 e la sua larghezza nella zona più spessa, regione D, e di μ 144 ± 1,3. L'estremità anteriore è arrotondata; il corpo si assottiglia leggermente,

---

Spiegazione delle Figg. 7, 8:

7) Femmina. Regione *A*: Vulva vista di faccia e rapporti con gli organi vicini.
8) Femmina. Regione *A*: Vulva vista di lato

7


Esofago
Cuticola
muscoli
Intestino
Utero
Vulva
Vagina
μ 100

8

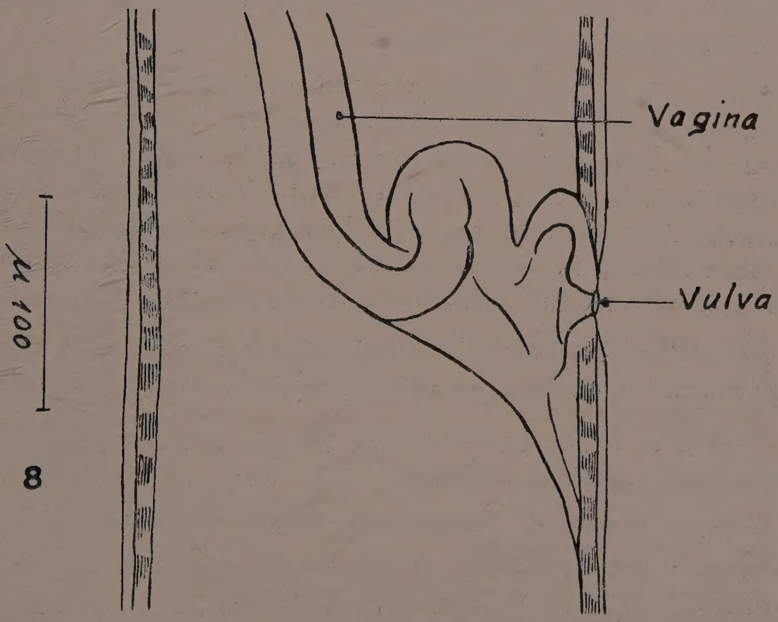

μ 100
Vagina
Vulva

Fig. 7.
Fig. 8.

dopo l'estremità cefalica, per poi allargarsi di nuovo. La coda invece forma 4-5 spirali e termina assottigliandosi. La convessità dell'estremità è solcata da un lieve avvallamento sagittale che è difficile notare nei preparati, orientandosi questi normalmente di fianco.

Cuticola. — La cuticola sia del maschio che della femmina rappresenta un involucro resistente che completamente racchiude il corpo del verme interrompendosi solo a livello degli orifizi orale, vulvare ed anale nella femmina; ed a livello degli orifizi orale e della cloaca nel maschio. La cuticola penetra per un breve tratto nell'interno di questi orifizi. Essa in ambedue i sessi è trasparente ma finemente striata trasversalmente come si osserva nella fig. 17; ha uno spessore di μ 4,5 nel maschio e di circa μ 2 nella femmina.

Formazioni proprie della cuticola di notevole importanza nella sistematica sono le « papille » e le « spine ». Le prime sono rappresentate dalle papille terminali caudali della femmina e dalle papille peri-cloacali del maschio. Le spine invece sono osservabili solo in una porzione della cuticola del maschio.

Papille terminali-caudali. — Le papille caudali, che a piccolo ingrandimento sembrano 2 in numero, situate ai bordi interni di due specie di labbra terminali, a forte ingrandimento risultano costituite da due gruppi di tre papille ciascuno, molto vicine una con l'altra (fig. 11). Le papille peri-cloacali sono invece molto sottili e brevi e si riesce a distinguerle ad immersione e quasi esclusivamente seguendo le fibre nervose che terminano in esse. Sono in numero di 4-5 per lato, molto vicine all'orifizio cloacale. Non esistono papille dell'estremità cefalica nei due sessi.

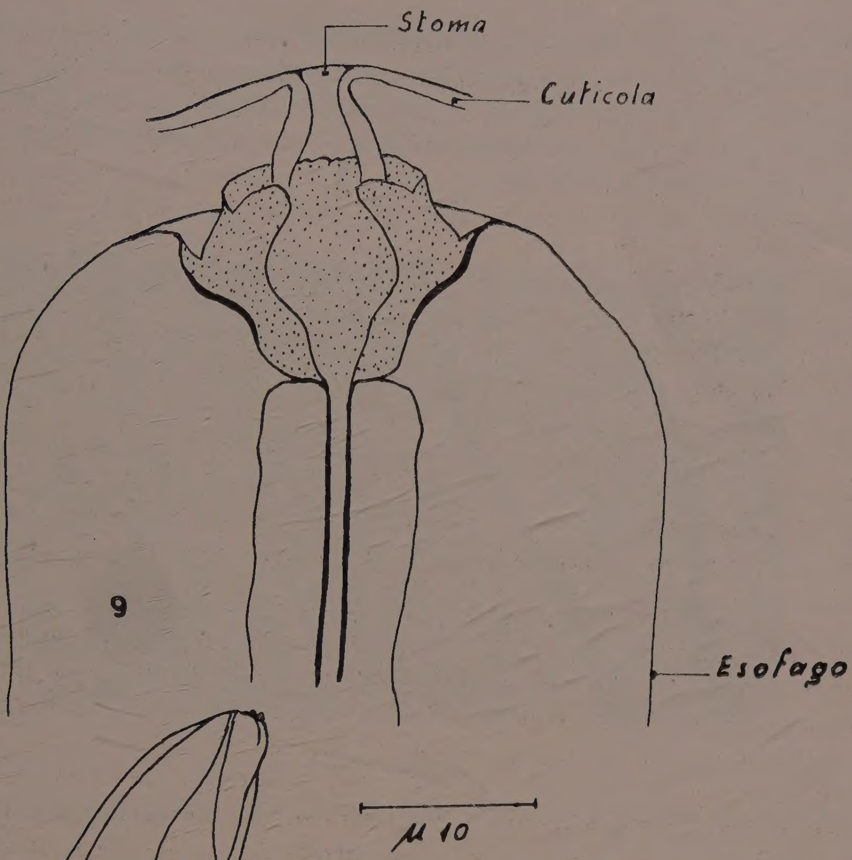
Spine. — Esse sono costituite (fig. 12) da numerose formazioni aguzze della cuticola, sparse su di una fascia longitudinale comprendente solo il lato ventrale dei vermi maschi, e cioè in gran parte la porzione interna delle spire. Le spine iniziano a circa mm. 1,1 (regione G) dall'estremità caudale e terminano a circa mm. 3,5 (regione F) dall'estremità caudale comprendendo così tutte le spire tranne l'ultima. La funzione di queste ovviamente risiederebbe in un vantaggio meccanico nell'accoppiamento.

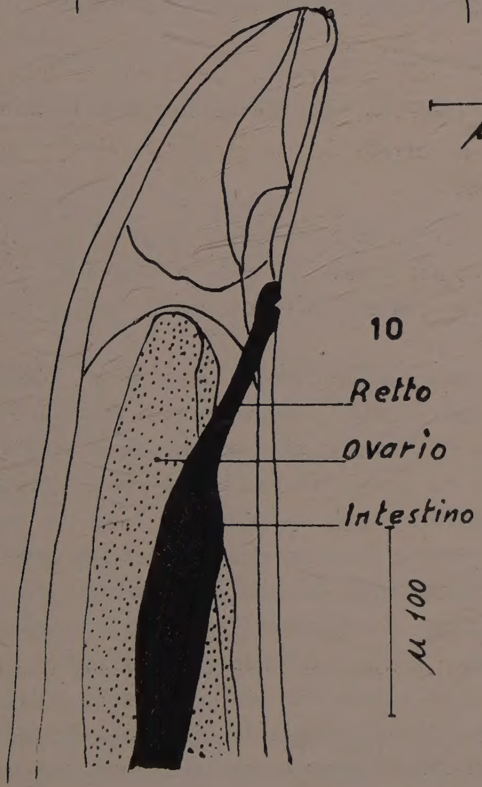
Muscolatura somatica. — I muscoli constano di un cilindro muscolare, immediatamente al disotto della cuticola, costituito da fibre muscolari longitu-

---

Spiegazione delle Figg. 9, 10, 11:

9) Femmina. Regione *A*: Dettagli delle strutture chitinose dello stoma e della parte cefalica dell'esofago.
10) Femmina. Regione caudale: Mostra un'ansa dell'ovario, l'intestino che riducendosi di larghezza forma il retto, ed il poro anale.
11) Femmina. Estremità caudale: Dettaglio dei due gruppi di papille terminali (schematico).





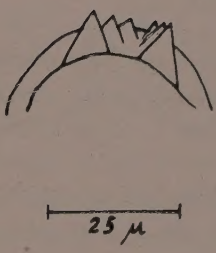


Fig. 10.

Fig. 9.

Fig. 11.

dinali. Mentre la femmina ha uno spessore muscolare di circa μ 3 per tutta la lunghezza del corpo, nel maschio invece lo spessore, massimo di μ 50 nelle regioni A e B, decresce fino ad un minimo nella regione caudale. L'anello muscolare nella regione caudale femminile si divide in fasci ben distinti, mentre ciò non avviene nel maschio.

Fig. 12.

12) Maschio. Regione *F*: Porzione di spirale del maschio che mostra il bordo interno ricoperto di « spine » (630 ×).

Sistema digerente. — Il sistema digerente ha pressochè gli stessi caratteri nei due sessi, eccetto che nella regione caudale, ove nella femmina esso termina col retto ed il poro anale mentre nel maschio il retto si confonde con la cloaca, porzione terminale comune al sistema digerente ed a quello riproduttore.

Il sistema digerente inizia dal vertice dell'estremità cefalica con l'orifizio orale ove la cuticola si introflette delimitando lo stoma vero e proprio. Alla cuticola segue, parzialmente immersa nell'esofago, una formazione chitinosa di circa μ 15 di larghezza che possiede un labbro interno e due cercini esterni, uno al limite superiore ed uno a circa la metà. Quest'ultimo è in continuazione con le pareti laterali dell'esofago. La fig. 9 mostra una sezione longitudinale a metà dello stoma, con visione obliqua dall'alto che permette di rappresentare l'anello chitinoso in profondità. Lo STEINER (7) chiama questi ispessimenti chitinosi « stomato-rhabdions ». E' ben difficile poter stabilire delle omologie con le parti descritte da quest'autore nel suo lavoro sulla morfologia del nematode *Cylindrogaster longistoma* comparato al genere *Rhabditis*.

Il tubo digerente continua con un canale chitinoso che si estende per tutta

la lunghezza dell'esofago, espandendosi leggermente prima di affacciarsi nel lume dell'intestino proprio. A questo punto, come dimostrano le fig. 3 e 7 sembra che esista una struttura a funzione valvolare esofago-intestinale.

L'esofago è un cilindro muscolare lungo in media μ 428 $\pm$ 10 nel maschio e μ 510 $\pm$ 23 nella femmina; e largo μ 39,2 $\pm$ 1,3 nel maschio e μ 38,6 $\pm$ 2 nella femmina. Sia lo stoma che l'esofago sono morfologicamente simili tanto nel maschio che nella femmina.

L'intestino è formato da un canale cilindrico, il tessuto del quale ha una struttura a mosaico che assume intensamente sia i colori basici che l'eosina.

Nel maschio esso percorre per tutta la lunghezza il corpo del verme, dall'esofago fino alla cloaca. Nella regione A, la larghezza è massima, circa μ 100, ma essa si riduce man mano per arrivare, nella regione G a circa μ 6-7. L'orifizio della cloaca dista dall'estremità caudale μ 95 $\pm$ 2,6.

Nella femmina l'intestino, strutturalmente simile, è più uniforme nella larghezza che varia fra i 40 ed i 50 μ. Questa si riduce improvvisamente a livello del retto, come dimostra la fig. 10, e perde in esso la caratteristica struttura a mosaico. La lunghezza del retto è di μ 102 $\pm$ 5,85. Il poro anale dista dall'estremità caudale μ 177 $\pm$ 7,4

Anello nervoso. — Non è stato da noi dettagliatamente studiato. Esso, come mostra il disegno di SEURAT, riportato da YORKE e MAPLESTONE, è una struttura trasversa, a poca distanza dall'estremità cefalica, con la base d'attacco alla parete del verme, allargata.

SISTEMA RIPRODUTTORE MASCHILE.

Testicolo. — Il sistema riproduttore maschile consta di un testicolo cilindrico, lungo quasi quanto il corpo del verme, che ha inizio all'altezza dell'esofago (fig. 3) con la larghezza minima di circa μ 14, regione A, e va gradualmente aumentando fino a raggiungere, nella regione E_2 (fig. 2) circa μ 60, e per poi diminuire, nella regione F e G, a circa μ 40. A circa 150 μ dalla base dello spiculo S il testicolo si separa in due canali che penetrano negli spiculi, alla loro base. Poichè l'impianto dello spiculo D è molto più distale che non l'impianto dello spiculo S, ne consegue che la lunghezza del ramo destro del testicolo è altrettanto più lunga.

Spiculi. — Lo spiculo S (fig. 5) è lungo circa μ 301,3 $\pm$ 0,95 ed è formato da un canale rigido, chitinoso, che arriva fino a circa la metà dello stesso spiculo. Continua una tenue formazione chitinosa, quasi un flagello, che è accompagnato per tutta la sua lunghezza da una membrana trasparente, come dimostra la fig. 13.

Lo spiculo D (fig. 6) è invece molto più corto, μ 107,5 $\pm$ 0,50, ed è impiantato più caudalmente. Anche nella sua architettura è ben differente da

quello S. Come si osserva dalla fig. 6, questo è costituito da una formazione chitinosa più larga, mancante del flagello terminale e della membrana.

E' probabile che lo spiculo D serva di guida allo spiculo S.

Spiculo e cloaca. — Ambedue gli spiculi risiedono in una cavità propria. Ambedue le cavità si uniscono a livello della cloaca. Rimane oltremodo dif-

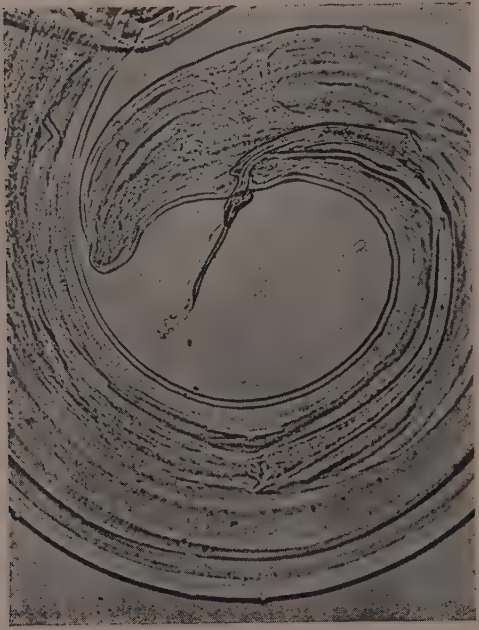


Fig. 13.

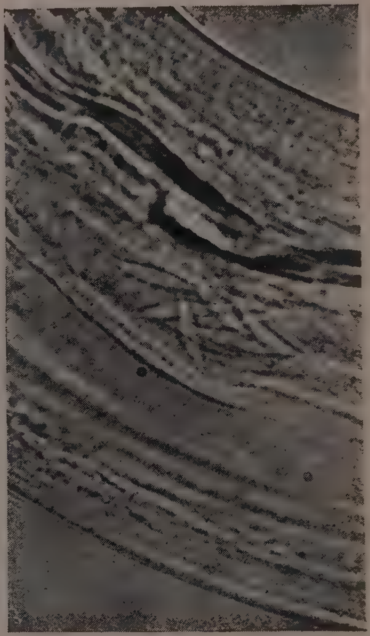


Fig 14.

13) Maschio. Estremità caudale: Gli spiculi sono parzialmente fuoriusciti dall'orificio della cloaca. La porzione terminale dello spiculo sinistro mostra la membrana che lo accompagna fino all'estremità. Si nota l'assenza della « punta subterminale » di Seurat (252 ×).

14) Maschio. Regione G: Spermatozoi nella biforcazione destra del testicolo, a circa metà dello spiculo sinistro (630 ×).

ficile il poter stabilire la formazione esatta di questo sistema di organi. Gli spiculi fuoriescono dall'orifizio della cloaca (fig. 13) molto probabilmente in seguito a contrazione ed accorciamento della porzione caudale del verme.

Spermatozoi. — Gli Spermatozoi maturi, della forma di grani di avena, si osservano a varie altezze nel testicolo del verme, a seconda degli esemplari. La fig. 14 mostra un gruppo di spermatozoi all'altezza dello spiculo S, nel ramo testicolare D.

Sistema riproduttore femminile.

Il sistema riproduttore femminile inizia con due lunghi ovari che ad un certo punto si allargano per formare gli uteri. Mentre nell'ovario si ha la formarzione degli embrioni, nell'utero si ha il loro sviluppo. Gli uteri sono più volte ripiegati su se stessi dato che la loro lunghezza è maggiore del tratto che occupano nel verme (figg. 10 e 18). Poichè queste convoluzioni sono irregolari, nello stesso segmento si possono avere gli uteri a livelli differenti, e di conseguenza gli embrioni a diverso stadio di sviluppo. Per la stessa ragione anche il calibro degli uteri può essere differente nello stesso segmento del verme. Ciò può essere tuttavia causato dalla considerevole pressione esercitata

Fig. 15.

Fig. 16.

15) Femmina. Al centro della figura, da sinistra a destra, i due ovidotti si fondono formando la vagina uterina (252 ×).
16) Femmina. Porzione di vagina fuoriuscita dal corpo del verme, con microfilarie mature. All'estremità superiore, due uova non sviluppate (384 ×).

dagli uteri rigonfi, che può determinare lo schiacciamento di uno di essi. Questa pressione, difatti, fa sì che il più lieve trauma, o anche il solo contatto con soluzione fisiologica, rompa la parete del verme e faccia erniare gli organi interni. Ciò avviene quasi costantemente all'altezza della vagina, luogo di mi-

nore resistenza; si osserva raramente nei maschi dato il maggiore spessore della cuticola e della parete muscolare.

Gli uteri al loro termine si assottigliano e formano una serie di rigonfiamenti e di restringimenti. Questo tratto probabilmente corrisponde agli ovidotti. Quindi i due canali si uniscono (fig. 15) per costituire la vagina uterina che si continua nella lunga vagina vera, a pareti spesse ed a lume stretto

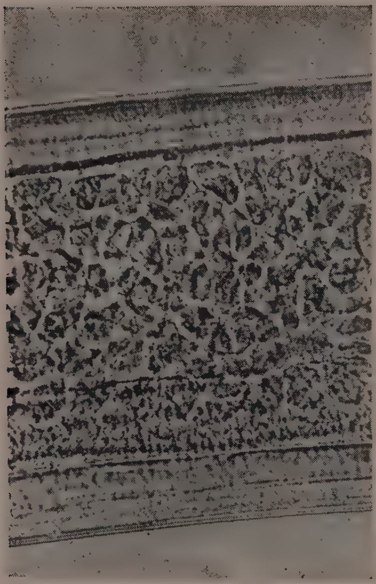


Fig. 17.

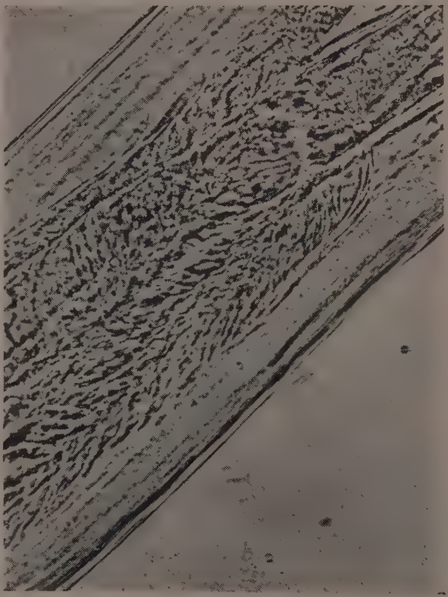


Fig. 18.

17) Femmina. Porzione di regione *G*: Stadio di sviluppo delle uova, contenute in un utero, a livello di questa regione. In basso si nota il tubo digerente. Al bordo inferiore è evidente la fine striatura traversa della cuticola (252 ×).

18) Femmina. Porzione di regione *I*: La figura mostra, al centro, un'ansa di un utero con embrioni ben sviluppati, a tipica disposizione di « treccia ». A destra, in alto, un ovario con pareti spesse ed a sinistra il canale digerente (252 ×).

Anche la vagina compie alcuni ripiegamenti su se stessa prima di sboccare nella vulva (figg. 7-8) che dista dall'estremità cefalica μ 653 $\pm$ 25. Questa formazione, di architettura complicata, pare non essere altro che la fusione di alcune convoluzioni della vagina, come è evidente dalla fig. 8.

Questa filaria, secondo la descrizione dell'apparato riproduttore femminile di cui sopra, apparterrebbe quindi al tipo « opistodelfico ».

Sviluppo degli embrioni. — Lo sviluppo degli embrioni avviene, come già accennato, progressivamente negli uteri, come negli altri generi della sottofamiglia *Filariinae.* Si susseguono negli uteri gli stadi di blastula, morula ed embrione vermiforme. La fig. 17 rappresenta lo sviluppo degli embrioni nella regione G, mentre la fig. 18 mostra gli embrioni vermiformi, della regione I, pressochè maturi e disposti nella caratteristica configurazione di « treccia », similmente a quello che hanno osservato CROSS e SCOTT nella *Litomosoides carinii.* Il trovare gli embrioni pressochè maturi nella regione I, cioè presso l'estremità opposta di dove si trova l'apertura vulvare, dimostra come siano ampie le convoluzioni degli uteri.

Microfilarie. — Le microfilarie mature, considerate tali quando non è evidente più la membrana ovulare che le racchiude (fig. 16) sono lunghe in media circa μ 75 e larghe, nel punto di massimo spessore, μ 4-5. Non abbiamo studiato le caratteristiche morfologiche delle microfilarie; possiamo solo dire che l'estremità cefalica è arrotondata e larga quasi quanto il corpo che gradualmente si assottiglia per terminare in una coda filiforme.

DISCUSSIONE

La descrizione dei nostri esemplari concorda grosso modo con quella fatta da SEURAT. Tuttavia alcuni caratteri si scostano notevolmente dal quadro riportato da questo A.. In primo luogo i nostri esemplari hanno una lunghezza media maggiore di quella degli esemplari di SEURAT. Difatti la lunghezza media delle femmine da noi studiate è di mm. 53,2 $\pm$ 1,60, e dei maschi è di mm. 26,8 $\pm$ 6,88; mentre i dati riportati da SEURAT sono: femmina mm. 26 e maschio mm. 17. E così sono maggiori, in proporzione, tutte le altre misure come la larghezza massima del corpo, la lunghezza dell'esofago, degli spiculi, ecc.

Inoltre, alcuni caratteri morfologici da noi rilevati, di importanza nella sistematica, mancano nella descrizione di SEURAT. Degni di rilievo sono: le spine nelle spirali caudali del maschio, la striatura trasversa della cuticola, la membrana dello spiculo sinistro, i dettagli dello stoma ed infine le minutissime papille peri-cloacali del maschio.

Notiamo che SEURAT descrive una sola spirale nel maschio, mentre noi ne abbiamo osservato 4-6. Si può pensare tuttavia che la fissazione degli esemplari abbia influito sulla distensione della coda del verme maschio.

Inoltre il predetto A., descrivendo il genere *Litosoma* BENEDEN riporta che « la coda della femmina è ornata all'estremità da due punte divergenti fra le quali si distinguono due piccole spine (mucrons) ». Non ci è stato pos-

sibile di osservare, esaminando numerosi preparati, queste due piccole spine, ma abbiamo potuto constatare, dopo accurata analisi dell'estremità della coda che le due papille terminali sono in verità formate da due gruppi di papille strettamente aderenti fra loro, come riprodotto nella fig. 11. Queste nostre osservazione ci sembrano non prive di un certo interesse se si considera che la classificazione dello SPREHN (6) si basa, per il genere *Litomosa* anche sulla presenza delle due spine mediane terminali della femmina.

Dai disegni e dalla descrizione di questo A. risulta anche che la coda del maschio porta una « punta subterminale ». Nei nostri esemplari non abbiamo notato nessuna formazione che sporga dalla superficie cuticolare.

Infine lo spiculo destro, che termina secondo SEURAT con « una sorta di spatola aliforme », ha nei nostri esemplari dei caratteri differenti, come è ovvio dalla fig. 6.

Perciò, date le notevoli differenze fra la descrizione del SEURAT e la nostra e dato che gli esemplari raccolti dall'A. francese provenivano da un genere di pipistrelli diverso dal nostro (*Rhinolophus*), e da una regione (Algeria) lontana dalla località ove catturammo i nostri esemplari (Sardegna), crediamo opportuno con il nostro materiale creare una nuova specie del genere *Litomosa* alla quale daremo il nome di *Litomosa Ottaviani* LAGRANGE e BETTINI, 1948.

RIASSUNTO

Gli AA. descrivono una nuova specie di filaria, parassita di pipistrelli *Vespertilio murinus* e *Miniopterus schreibersi* della Sardegna, che chiamano *Litomosa Ottavianii*. LAGRANGE e BETTINI, 1948.

RESUME'

Les AA. décrivent une espèce nouvelle de filaire parasite des chauve-souris *Vespertilio murinus* et *Miniopterus schreibersi*. Ils l'appellent *Litomosa Ottavianii*. LAGRANGE et BETTINI, 1948.

SUMMARY

The AA. describe a new species of filaria parasite of the bats *Vespertilio murinus* and *Miniopterus schreibersi*. They name the new species *Litomosa Ottavianii*. LAGRANGE and BETTINI, 1948.

LETTERATURA

1) ARCHETTI I. e BAUDIERI B. (1942), *Rendic. Ist. Sup. San.* 5, 1049-1057.
2) BETTINI S. e LAGRANGE E. (1947), *Riv. Parass.* 8, 191-196.
3) CROSS J. B. e SCOTT J. A. (1947), *Trans. Am. Micro. Soc.*, 66, 1-2.
4) KOLENATI FR. A. (1857), Die Prasiten der Chiroptern, Dresden.
5) SEURAT M. L. G. (1921), *Bull. Mus. Nat. Hist. Natur.* 27, 103-106.
6) SPREHN C. E. W. (1932), Lehrbuch der Helminthologie, Berlin.
7) STEINER G. (1933), *J. Paras.* 20, 66-69.
8) VAN BENEDEN P. J. (1873), *Mem. Ac. Roy Sc. Belg.* 40.
9) YETWIN J. (1944), *J. Paras.* 30, 201.
10) YORKE e MAPLESTONE (1926), The Nematodes Parasites of Vertebrates, London.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. IX - N. 2 - Giugno 1948

DETERMINAZIONE COLORIMETRICA DEL DDT SULL'INTONACO DELLE PARETI TRATTATE

Prof. DAVID RAFFAELLI

Laboratorio Chimico Provinciale di Latina
Direttore: Prof. D. Raffaelli

La diffusione che l'impiego del DDT ha avuto come insetticida e come mezzo di lotta antianofelica condotta con risultati tanto soddisfacenti nelle zone malariche ha fatto sentire la necessità di un metodo rapido di riconoscimento e determinazione sulle superfici trattate.

Nella Provincia di Latina già da più di due anni viene impiegato questo insetticida su vasta scala per la lotta antianofelica con risultati veramente meravigliosi ed ora sarebbe utile studiare quale resistenza l'insetticida presenta a distanza di mesi, nelle diverse condizioni di umidità e di esposizione delle pareti trattate, ed osservare se la emulsione è più resistente nelle zone umide o asciutte, battute dai venti o riparate, oppure se la soluzione di petrolio o la sospensione in acqua presentano maggiore resistenza.

Diverse sono le reazioni colorate impiegate da vari autori come mezzo di riconoscimento del DDT, le quali possono essere impiegate anche per la determinazione quantitativa per via colorimetrica; alcune male si prestano per una rapida e facile determinazione come invece generalmente si richiede da coloro che si occupano dei servizi di spruzzamento delle soluzioni, sospensioni ed emulsioni di DDT.

Uno dei metodi più sensibili di determinazione colorimetrica è quello proposto da H. A. Stiff e J. Castillo (1) che usa come reattivo una soluzione di xantidrolo nella piridina.

Un altro metodo è quello elaborato da Bailes e Payne (2) che permette di svelare piccolissime quantità di DDT.

Ma tanto il primo che il secondo metodo non sono rapidi nè di semplice tecnica per quanto molto sensibili. Un'altra reazione colorata che sembra sia

molto sensibile e rapida è quella proposta da M. E. ALESSANDRINI e riportata in una nota preliminare in attesa che il metodo venga descritto dettagliatamente in una seconda nota (3).

Ritenendo che possa essere di notevole utilità per quanti si interessano di questi problemi, si è creduto opportuno far conoscere il metodo di determinazione del DDT eseguito presso il nostro Laboratorio per determinare l'insetticida ancora presente sui campioni di intonaco che il Comitato Antimalarico della nostra Provincia ha inviato al Laboratorio.

Il metodo si presta molto bene per la sua semplicità e rapidità, con risultati sufficientemente esatti e controllati con soluzioni campione. Si basa sulla reazione proposta da CHAIKIN (4) per la determinazione del DDT nel prodotto tecnico messo comunemente in commercio.

Il metodo può essere applicato anche per determinazioni da eseguire su campioni di carta da parati o su altro materiale già preventivamente trattato con l'insetticida.

PARTE SPERIMENTALE

La superficie su cui si vuol determinare il DDT viene raschiata con un coltellino raccogliendo la polvere su un foglio di carta; è sufficiente asportare l'intonaco su una superficie di 100 cm^2. Bisogna tenere presente la grandezza della superficie da cui si asporta l'intonaco per riferire la quantità di DDT eventualmente trovata ad 1 m^2., unità di misura adoperata per indicare la quantità di insetticida spruzzato. La polvere ottenuta si estrae per due o tre volte con cc. 4-5 di etere in una provetta agitando, e, dopo riposo, si decanta la parte limpida raccogliendo l'estratto in un provettone; è facile che il liquido etereo non sia limpido per piccole quantità di polvere in sospensione: ciò non ostacola la reazione. Se si vuol fare più in fretta, e vi è la possibilità, si filtra l'estratto etereo su di un piccolo filtro ripetendo l'operazione tre volte, sempre adoperando quattro o cinque cm^3 di etere. Si fa evaporare la soluzione eterea ottenuta, o per decantazione o per filtrazione, su un bagno-maria bollente sino a completa eliminazione dell'etere.

Per la reazione è bene adoperare provettoni del diametro di circa 2 cm. e della lunghezza di 10-15 centimetri.

Il residuo si riprende con cm^3 2 di acido acetico glaciale e si riscalda a bagno-maria per qualche secondo agitando, si aggiungono cm^3 10 di acido solforico concentrato della densità $D = 1{,}84$ e si pone il provettone su bagno-maria bollente per 10 minuti.

In presenza di DDT si ottiene una soluzione colorata in giallo tendente leggermente al verde la cui intensità varia con la quantità di DDT presente. Si raffredda in acqua corrente e si travasa il liquido in una provetta per il

confronto della intensità della colorazione con quella di soluzioni campione precedentemente preparate.

Per i tubi campione è stata adoperata una soluzione diluita di Metachromgelb 2R.D. Grübler con aggiunte di tracce di soluzione diluita di methylgrün Grübler, per dare al colore giallo la tonalità verde necessaria per avere un colore uguale a quello che si ottiene eseguendo la reazione con quantità note di DDT.

Le soluzioni di DDT campione usate per la reazione di confronto sono state preparate con DDT tecnico della Ditta Geigy nel modo seguente: (Soluzione 1ª) gr. 0,25 in un palloncino tarato da cm^3 100 disciolti in poco acido acetico a caldo su bagno-maria e portato a volume dopo raffreddamento con acido acetico; (Soluzione 2ª) gr. 0,50 preparata come sopra.

Della soluzione 1ª sono stati presi cm^3 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 corrispondenti a gr. 0,00025 - 0,00050 - 0,00075 - 0,001 di DDT; della soluzione 2ª sono stati presi cm^3 0,3 - 0,4 - 0,5 - 0,6 - 0,7 - 0,8 - 0,9 - 1 corrispondenti a gr. 0,0015 - 0,0020 - 0,0025 - 0,0030 - 0,0035 - 0,0040 - 0,0045 - 0,0050 di DDT.

A queste quantità di soluzione sono stati aggiunti tanti centimetri cubi di acido acetico glaciale quanti ne mancano per raggiungere i cm^3 2, quindi cm^3 10 di acido solforico concentrato, e si è proceduto nel modo sopradescritto.

Dopo raffreddamento il liquido colorato è stato travasato in una provetta uguale a quelle usate per la confezione dei tubi campione, e confrontato con una soluzione colorata la cui intensità viene corretta sino a raggiungere la tonalità esatta corrispondente a quella del liquido di reazione.

I tubi sono stati chiusi alla lampada, ma possono anche essere chiusi con semplice tappo di sughero paraffinato. Si conservano inalterati per molto tempo, e possono essere controllati con soluzioni note di DDT.

In questo modo si ottiene una serie di tubi campione della seguente scala:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
gr.	0,00025;	0,00050;	0,00075;	0,0010;	0,0016;	0,0020;	0,0025;	0,0030;	0,0035;

10	11	12
0,0040;	0,0045;	0,0050.

Per la determinazione delle piccole quantità di DDT presenti sull'intonaco delle pareti è sufficiente la scala sopra riportata, e se in qualche caso si ottiene una reazione con colorazione più intensa del tubo 12 si ripete la determinazione adoperando metà della polvere usata la prima volta.

Ciò è difficile che si verifichi perchè generalmente non si superano i gr. 2 di DDT per metro quadro, mentre il tubo 12 corrisponderebbe a gr. 5 per metro quadro usando la polvere ottenuta dalla raschiatura di 10 cm^2.

Come è già stato accennato, piccole quantità di polvere di intonaco che possono passare con la decantazione della parte eterea durante la estrazione non dànno alcun fastidio alla reazione.

Per le superfici trattate con emulsioni o sospensioni invece che con soluzioni di DDT, talvolta si può ottenere una colorazione leggermente bruna, dovuta all'azione dell'acido solforico sù piccole quantità di emulsionante presente nella polvere ed estratto dall'etere insieme al DDT; così pure quando si eseguiscono determinazioni su materiale che può contenere sostanze grasse.

Se la ricerca si limita alla reazione qualitativa questa colorazione leggermente bruna non impedisce di riconoscere se l'insetticida è presente o no poichè il colore giallo-verde è sempre evidente, ma se si deve procedere ad una determinazione quantitativa ciò può ostacolare il confronto con il tubo campione corrispondente.

In tali casi si può procedere nel seguente modo: la polvere, o altro materiale in esame, viene estratta con etere, e l'estratto etereo posto in una capsula piccola viene evaporato su bagnomaria. Il residuo si tratta con 5 cmc. di soluzione concentrata di permanganato di potassio acida per acido solforico, si porta di nuovo a secco su bagnomaria. Se il liquido durante il riscaldamento si decolora, ciò che difficilmente avviene, si aggiunge qualche altro centimetro cubo di permanganato. Il residuo che rimane nella capsula si estrae di nuovo con etere mantenendo la capsula leggermente calda ed agitando con una bacchetta di vetro. Il liquido etereo di estrazione si raccoglie in un provettone e di nuovo si fa evaporare, quindi si procede nel modo già descritto.

In questa maniera si ottiene una colorazione giallo-verde limpida che può essere confrontata con le soluzioni dei tubi campione per la determinazione quantitativa.

La precisione del metodo dipende essenzialmente dalla quantità di acido acetico adoperata, che deve essere di cm^3 2, dalla temperatura di riscaldamento, che non deve superare quella dell'acqua bollente e dalla concentrazione dell'acido solforico che deve essere di densità 1,84.

Il tempo impiegato per la reazione è di 15 minuti circa.

Non occorre una particolare apparecchiatura nè reattivi speciali, e per queste sue caratteristiche il metodo può trovare largo impiego ogni volta sia necessaria una determinazione rapida e sufficientemente esatta.

Il confronto con i tubi campione è bene sia fatto alla luce riflessa, appoggiando la provetta su una superficie bianca; se si vuole essere più precisi e si dispone di un colorimetro tipo Hellige, le osservazioni possono essere fatte ponendo le provette al posto delle vaschette ed usando il filtro di vetro bianco e non azzurro perchè altrimenti si avrebbero colorazioni troppo tendenti al verde.

RIASSUNTO

Si descrive un metodo semplice e rapido, basato sulla reazione di Chaikin, per il dosaggio colorimetrico del DDT presente sulle pareti trattate.

RESUME'

L'A. décrit une méthode simple et rapide, qui se rapporte à la réaction de Chaikin, pour le dosage colorimètrique du DDT sur les parois traitées.

SUMMARY

A simple and quick method, derived from Chaikin's reaction, for the colori metric test of DDT present on sprayed walls is described.

LETTERATURA

1) Stiff H. A. e Castillo J. (1945). *Science*, *101*, 440.
2) Bailes e Payne (1945). *Ind. Eng. Chem. An. Ed.*, *17*, 438.
3) Alessandrini M. E. (1948). *Ann. Chim. Applicata*, *38*, 53.
4) Chaikin S. W. (1946). *Ind. Eng. Chem. An. Ed.*, *18*, 272.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. IX - N. 2 - Giugno 1948

PRIMI RISULTATI DELLA LOTTA CON L'OCTA-KLOR ED IL GAMMAESANO CONTRO LE MOSCHE DOMESTICHE RESISTENTI AL DDT

S. BETTINI e B. BARACHINI

Istituto Superiore di Sanità
Laboratorio di Malariologia — Capo: Prof. A. Missiroli

Verso la metà di marzo 1947, come parte della campagna antianofelica nell'Agro Romano, è stato iniziato il trattamento con DDT delle abitazioni, stalle, porcili, ecc. delle zone di Maccarese e Fiumicino. L'applicazione dell'insetticida è terminata il 22 maggio.

Come già si era osservato negli anni precedenti, i risultati furono ottimi per quanto riguarda l'anofelismo della regione. Tuttavia, durante il periodo di lavoro, si notarono, contrariamente a quanto si era verificato nelle precedenti applicazioni, alcune mosche domestiche che non sembravano morire in seguito al contatto con il DDT. Man mano che la stagione calda si inoltrava, queste crebbero di numero fino a diventare copiosissime.

Già nel maggio 1947 Saccà, in località «Prebenda» (Anzio) aveva notato che nelle abitazioni esistevano molte mosche domestiche verso le quali il DDT non esercitava la nota azione tossica (*).

Ci recammo allora nella zona di Maccarese, e per assicurarci che si trattava di insetti che resistevano veramente all'azione insetticida del DDT, il 28 giugno scegliemmo alcuni locali, principalmente stalle, nel cui interno abbondavano le mosche.

Questi locali furono da noi trattati una seconda volta con DDT nelle tre forme d'impiego, e cioè in soluzione, in emulsione ed in sospensione. Facemmo in modo che il deposito di sostanza sulle pareti fosse più abbondante, ripetendo due volte l'applicazione, o usando un solvente, come la trielina, in

(*) Saccà G. (1947), *Riv. di Parass.* 8, 127-128.

TABELLA I.

CONCENTRAZIONE DEL D D T E VEICOLO	Nome del casale trattato	Tipo dei locali	Superficie in mq.	Quantità impiegata in Kg.	D D T per mq. in gr.	Data del trattamento	CONTROLLI						
							LUGLIO						AGOSTO
							5	10	15	20	25	30	5
1 - Sospensione 10 % . .	Falconieri	Stalla	4900	265	5,3	28-6-30	+						
2 - Sospensione 5 % . .	Falconieri	Stalla tori	750	30	2,00	30-6-47	+						
3 - Soluzione 5 % . .	Granareto	Stalle	3104	156	2,00	30-6-47	+						
4 - » » . .	»	Stalle	»	135	1,70	3-7-47	+						
5 - Emulsione 5 % . .	Tre Denari	Stalle	3776	242	3,20	3-7-47	+						
6 - Soluz. 5 % in Trielina .	Centro 36	Cucina	67	5,5	3,60	11-7-47			++	++	+		
7 - Emulsione 5 % . .	Centro 38	Stalla	1148	13	3,38	11-7-47			+				
8 - Soluzione 5 % . .	Centro 34	Stalla	1148	70	3,06	11-7-47			+				
9 - Sospensione 10 % . .	Centro 32	Stalla	1148	90	3,92	15-7-47			+				
10 - Soluzione 5 % . .	Centro 30	Stalla, porcili, abitazione Capo Stalla	1403	36,8	1,31	23-7-47					+		
11 - Soluz. 7,1 % in Trielina	Centro 31	Stalla, porcili, 3 abizioni	2455	72	2,06	24-7-47					+		
12 - Soluzione 5 % . .	Scuola « Marchiafava »	Refettori, cucina	750	31	2,10	31-7-47							+
13 - Emulsione 5 % . .	Scuola « Dionisi »	Cucina, refettori	498	9	4,96	5-8-47							+

cui il DDT si scioglie in percentuale maggiore che non nel petrolio. Si arrivò così, in un gruppo di stalle, a delle concentrazioni notevoli di DDT (gr. 5,30/m²).

Le mosche, eccetto quelle uccise dall'azione diretta del petrolio, xilolo, ecc., rimasero indisturbate da questa nuova dose di insetticida. Cessammo il trattamento con il DDT verso i primi di agosto (Tab. I).

Erano intanto pervenuti al Laboratorio di Malariologia dei piccoli quantitativi del nuovo insetticida Octa-Klor. Esso fu da noi subito impiegato, ma date le scarse conoscenze sulla sua tossicità verso i vertebrati superiori, fummo cauti nell'uso. Ci limitammo perciò a trattare cucine e refettori, evitando le camere da letto. (Tab. II).

L'Octa-Klor fu disciolto in petrolio alle concentrazioni di 1-5 %. Furono impiegate pompe a pressione già usate nella lotta antianofelica con il DDT. In qualche caso (Esp. 16-21) data la scarsità di petrolio adoperammo come solvente la soluzione già preparata di DDT al 5 % in petrolio, aggiungendo a questa le volute quantità di Octa-Klor. Irrorando abbondantemente le pareti ottenemmo in qualche locale una concentrazione di Octa-Klor sulle pareti di 2,35 gr./m².

Già dal primo giorno la riduzione delle mosche fu notevole, e dopo pochi giorni queste erano praticamente scomparse. L'assenza di mosche durò per un periodo di 4 mesi nei locali ove l'insetticida era stato applicato sì da ottenere una concentrazione di almeno 2 gr./m², mentre là dove la concentrazione era di 1 gr./m² le mosche cominciarono a riapparire dopo circa due mesi, e già dopo un mese nei casi in cui la concentrazione era di 0,60-0,50 gr./m².

Dai dati raccolti riteniamo perciò che, per ottenere una durata di azione insetticida di circa sei mesi, si debba depositare sulle pareti da 2 a 2,50 gr./m² di sostanza.

Verso la fine di agosto ricevemmo dei piccoli quantitativi di gammaesano dalla « Soc. Rumianca » con i quali iniziammo subito degli esperimenti. (Tab. III).

Usammo la stessa tecnica impiegata con l'Octa-Klor. In un solo esperimento (Esp. 23) la sostanza fu applicata in sospensione con acqua; mentre in tutti gli altri si usò la soluzione in petrolio, come con l'Octa-Klor, alla concentrazione del 5 %.

Data la rilevante volatilità del gammaesano, fummo del parere di applicare una quantità notevole del prodotto, e cioè non meno di 2 gr./m². Difatti la dose più bassa è stata quella dell'esperimento n. 2 ove abbiamo applicato 2,01 gr./m², e la più alta quella dell'esperimento n. 23, con 3,57 gr./m².

Il gammaesano tecnico ha la caratteristica di possedere un penetrante e sgradevole odore di muffa, particolarmente nauseante. Tenendo conto di questo fatto abbiamo evitato di trattare le stanze da letto e di soggiorno.

TABELLA II.

CONCENTRAZIONE DELL'OCTA-KLOR E VEICOLO	Nome del casale trattato	Tipo dei locali	Superficie in mq.	Quantità impiegata in lt.	Octa-Klor per mq. in gr.	Data del trattamento	CONTROLLI													
							Luglio			Agosto			Settembre			Ottobre			Novembre	
							10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20
14. Soluzione 5 % in petrolio	Centro 30	Cucina	51	2,40	2,35	10-7 47		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++ (2)
15. Soluzione 5% in petrolio	Centro 34	Locali vari	316	11,20	1,76	29-7-47				+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++ (2)
16. Soluz. mista 5% DDT+1,25% O.K.	Scuola « Marchiafava » Col. Marina	Cucina	23	0,96	0,69	16-8-47					++	(1)								
17. Soluzione (come sopra)	Stazione Sanitaria	Cucina Bagno	99	3,20	0,50	5-8-47				+++	+++	++								
18. Soluzione (come sopra)	Idrovore Pagliete	Cucina	62	2,40	0,60	12-8-47					+++	+++	++							
19. Soluzione (come sopra)	Scuola « Dionisi » Col. Marina	Cucina Refettori (solo pareti)	110	4,00	0,56	18-8-47					++	(1)								
20. Soluzione mista 5 DDT + 2 % O K.	Stazione Antimalarica	Cucina	35	1,30	0,91	6- -47				+++	+++	+++	+++	+++	+++	++				
21. Soluzione mista 5% DDT + 1% O. K.	Scuola « Marchiafava »	Cucina Refettori (solo pareti)	455	20,00	0,44	1-9-47							++	(1)						

TABELLA III.

CONCENTRAZIONE DEL GAMMEXANE E VEICOLO	Nome del Casale trattato	Tipo dei locali	Superficie in mq.	Quantità impiegata in lt.	Gammexane per mq. in gr.	Data del trattamento	CONTROLLI														
							Settembre			Ottobre						Novembre		
							20	25	30	5	10	15	20	25	30	5	10	15
22. Soluzione 5 % . .	Tre Denari	Stalla Portico Corridoio	969	60	3,09	15-9-47	++	++	++	++	+	−+	−+					
23. Sospensione 5 % .	Tre Denari	Stallette Porcili	559	40	3,57	22-9-47		++	++	++	+	−+	−+					
24. Soluzione mista: 5 % DDT + [illegible] % Gam.	Centro 7	Stalle Porcili Cucine Ingressi	1973	88	2,23	3-10-47				+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++ (2)	
25. Soluzione (come sopra)	Centro 28	Cucine Stalle	2018	88	2,18	11-10-47						+++	+++	+++	+++	+++	+++ (2)	
26. Soluzione (come sopra)	Centri 39-40	Cucine Stalle	4116	166	2,01	20-10-47								+++	+++	+++	+++	+++ (2)

(1) Sospese le osservazioni per interventi con altri insetticidi.
(2) Le osservazioni sono state sospese causa l'inoltrarsi della stagione fredda.
+++ morte di tutte le mosche presenti.
++ » di 2/3 delle » »
+ » di 1/3 delle » »

Nelle prime due prove (Esp. n. 22-23), ove è stata impiegata rispettivamente una soluzione al 5 % ed una sospensione al 5 %, l'effetto dell'insetticida, sebbene presente sulle pareti in concentrazioni di 3,09 e di 3,57 gr./m², non ha dato i risultati che ci attendevamo. Il numero delle mosche uccise non è stato totale e la durata dell'azione non ha superato un mese. Non sappiamo dare una spiegazione plausibile di questo fenomeno, specialmente se confrontiamo i risultati dei due primi esperimenti con i seguenti (Esp. 24, 25, 26). A meno che non si voglia pensare ad una azione sinergica del DDT con il gammaesano. Difatti, mentre nei due primi esperimenti abbiamo applicato il gammaesano solo, negli altri è stato usato questo prodotto in addizione al DDT (5 %). In questi ultimi, pur in concentrazioni molto minori (2.23, 2.18, 2.01 gr./m²), l'azione insetticida residua del gammaesano è stata totale, e non si sono riscontrate mosche per tutta la durata delle nostre osservazioni che si sono protratte fino a metà novembre, epoca in cui abbiamo sospeso l'esperimento poichè a causa della stagione inoltrata le mosche erano naturalmente diminuite di numero.

In base a questi ultimi esperimenti, possiamo senz'altro dedurre che una dose di circa 2 gr./m² può mantenere la sua azione tossica almeno per più di un mese. Non ci è dato però di poter stabilire quale sia la durata massima di tale dose perchè gli esperimenti non sono durati abbastanza a lungo, nè possiamo conoscere ancora la dose minima necessaria per un periodo di tempo di almeno 5-6 mesi perchè non abbiamo sperimentato con dosi più basse.

Effetti tossici sull'uomo e sugli animali.

Riguardo all'Octa-Klor ben poco possiamo dire circa le nostre osservazioni sulla sua tossicità sull'uomo giacchè non si è notata alcuna manifestastazione tossica da riferirsi all'azione insetticida, nè da parte del personale che ha usato l'Octa-Klor, nè da parte della popolazione occupante i locali trattati. L'odore del prodotto appena irrorato è leggermente irritante per le vie respiratorie ma non nauseante.

In quanto al gammaesano, invece, il suo forte odore di muffa ha provocato notevoli disturbi nel personale dirigente ed in quello addetto ai lavori. Difatti tre operai durate il periodo dal 15 settembre al 20 ottobre 1947 hanno accusato nausea e cefalea, mentre un altro ha avuto vomito. Anche un medico ed uno di noi che ha seguito direttamente il lavoro sono stati colpiti da nausea. Secondo le notizie della popolazione che occupava i locali trattati, molti individui si sono lamentati di lieve cefalea. Non si è potuto dimostrare alcun disturbo negli animali, delle stalle irrorate, causato dall'insetticida.

CONCLUSIONI.

Nel trattamento di locali infestati da mosche DDT-resistenti con i nuovi insetticidi Octa-Klor e gammaesano, si è potuto stabilire che l'optimum di concentrazione residua sulle pareti per ottenere un'azione insetticida che duri 6 mesi, è per l'Octa-Klor di 2,00-2,50 gr./m^2. Per il gammaesano, risulta solo dai nostri esperimenti che una dose superiore ai 2 gr./m^2 può mantenere un'azione letale contro le mosche almeno per più di un mese.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno eseguito esperimenti pratici sulle mosche domestiche resistenti all'azione del DDT nella zona di Maccarese. Queste mosche hanno dimostrato una resistenza a dosi elevate di detto insetticida (gr. 5,3/m^2), mentre sono morte, nella loro totalità, in seguito all'azione di contatto dei nuovi prodotti Octa-Klor e gammaesano. Gli AA. hanno stabilito per l'Octa-Klor la durata di azione a note concentrazioni.

RESUME'

Les AA. ont accompli des expériences pratiques sur le mouches domestiques résistentes au DDT dans la zone de Maccarese. Ces mouches, qui ont demontré une resistence envers des doses élevées du dit insecticide (gr. 5,3/m^2), sont mortes en totalité après l'action par contact des nouveaux produits Octa-Klor et gammaesano. Les AA. ont établi la persistence de l'action de l'Octa-Klor par concentrations donées.

SUMMARY

The AA. report some field experiments on domestic flies resistant to DDT, in the Maccarese area. These flies have shown a DDT resistance to high doses (gr. 5,3/m^2), while all of them died when they came in contact with the new products Octa-Klor and gammaesano. The AA. have determined how long the killing action of DDT lasts, at known concentrations.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. IX - N. 2 - Giugno 1948

OSSERVAZIONI MORFOLOGICHE SUL PRETARSO DELLE CULICINE

Dott. ITALIA NERI

Istituto Superiore di Sanità

Laboratorio di Malariologia — Capo: Prof. A. Missiroli

Il rinvenimento di *Culex pipiens autogenicus* nella zona di Latina dimostratisi particolarmente resistenti all'azione del DDT, contrariamente a quello che si verifica per *Culex pipiens* della stessa razza, ma provenienti da altre località (Massarosa) e che dimostrano una netta sensibilità verso il suddetto insetticida, mi ha indotto a ricercare se tale differente comportamento sia dovuto alla presenza o assenza di particolari organi chemioricettori nei tarsi.

Dato che nelle zanzare, come anche nelle mosche, il DDT agisce per contatto sopratutto attraverso i tarsi, lo studio minuto di questi ha assunto oggi particolare importanza.

Riservandomi di riferire in seguito per ciò che riguarda i chemioricettori che potrebbero essere presenti con sviluppo e distribuzione diversi, nei *Culex*, ritengo opportuno nel frattempo richiamare l'attenzione sul alcuni dettagli morfologici dei tarsi e più precisamente dei pretarsi nel *Culex pipiens autogenicus*. Ritengo anche utile fare un breve raffronto fra i tarsi di questa varietà e quelli di altre Culicine (*Aëdes aegypti*, *Anopheles maculipennis*).

Confrontando i pretarsi di tutte e tre le paia di zampe nelle suddette Culicine, sono stata colpita dalla particolare struttura dell'empodio. Tale organo che non mi risulta essere stato descritto finora nei *Culex* nelle sue minute particolarità morfologiche, sporge tra le due unghie di cui è

munito il tarso, e si diparte da uno sclerite che occupa buona parte del lato plantare del pretarso (sclerite plantare). Tale sclerite presenta una porzione basale ovoidale che richiama per il suo aspetto quello di una ventosa.

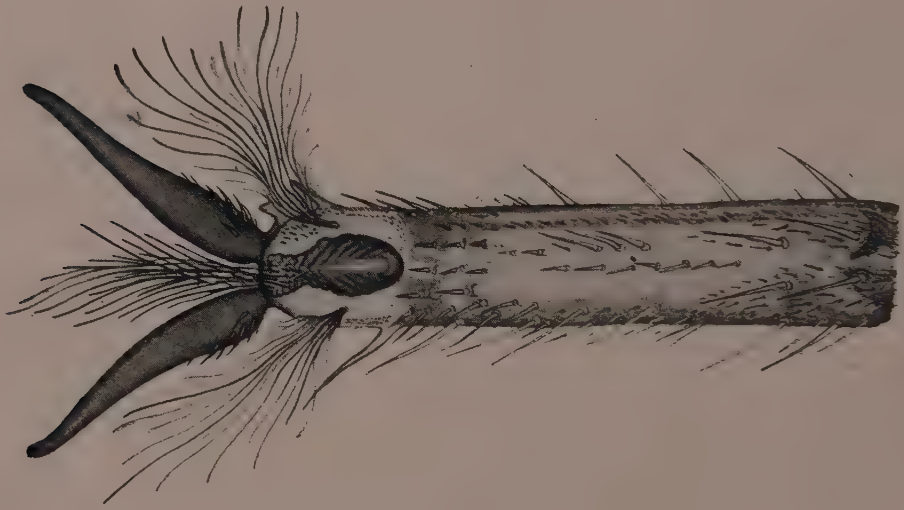


Fig. 1.

In tale porzione può distinguersi una zona mediana alquanto depressa di struttura uniforme e di colore più chiaro, compresa fra due zone laterali divise da strie oblique, rispetto all'asse maggiore, in lobi che sono più piccoli e più disordinatamente disposti verso la parte apicale dell'organo: l'estremo apicale culmina con due lunghi e rigidi peli ramificati che raggiungono quasi l'altezza delle unghie. Isolando il suddetto sclerite, esso, nel distaccarsi, trascina con sè un tendine, abbastanza lungo, che per un capo si inserisce al suo estremo basale e per l'altro capo ad un particolare muscolo della tibia. (Figg. 1, 2).

Fig. 2.

Per l'azione di questo muscolo tutto lo sclerite può essere ritratto o protratto all'innanzi. Per analogia a quanto si osserva negli altri Ditteri,

si deve ritenere che l'empodio e le unghie anche nelle Culicine abbiano la funzione di organo di adesione.

HOWARD e Coll. nel trattato « The Mosquitoes of North and Central America and the West Indies », Carnegie Institution of Washington, 1912, parlando delle zampe dei *Culex*, nota un cuscino membranoso a sostegno delle unghie e così egli lo descrive:

« Le unghie sono sostenute da un cuscino membranoso il quale occupa la porzione apicale al disotto dell'ultimo segmento tarsale. Questo cuscino può essere quasi non esistente come nel maschio dell'*Uranotoenia* quando le unghie sono inserite vicino, sopra il tarso e più o meno ventralmente. Il cuscino copre la scissione ventro apicale del quinto articolo tarsale e lo sviluppo del cuscino dipende dalla grandezza di questa scissione. Questo cuscino è bene sviluppato nella maggior parte dei Culicini e sporge al disopra e davanti al tarso come sostegno base delle unghie. Il cuscino è fornito di due pezzi chitinosi più o meno lanceolati, i pezzi flessori. Questi pezzi hanno muscoli attaccati alle loro basi e si incardinano sopra i tarsi; apicalmente essi sono attaccati alla base delle unghie. Dalla trazione dei muscoli le unghie sono spinte giù e fuori. Quando il cuscino è bene sviluppato e peloso particolarmente i peli sulla metà apicale sono lunghi e tesi... ».

E' evidente, dalla descrizione di HOWARD, che il cuscino di cui egli parla corrisponde allo sclerite plantare e che i pezzi chitinosi più o meno lanceolati (pezzi flessori) corrispondono alle porzioni laterali lobate del suddetto organo.

Presso i margini laterali del pretarso e ventralmente si trovano due peli arboriformi, ognuno dei quali si diparte da un unico piccolo tronco basale e che vengono generalmente riferiti a pulvilli.

Alcuni studiosi tra cui FICALBI, BLANCHARD, EDWARDS ed altri ammettono l'esistenza di due pulvilli bene sviluppati alla base delle unghie.

Anche nel libro di PATTON ed EVANS: « Insects, ticks, mites and venomous animals », Croydon, 1929, parte I, a pag. 274 è riportato un disegno dell'estremità distale del tarso di una *Culex pipiens* femmina ed in tale disegno sono messi in evidenza due grossi pulvilli in forma di lobi pelosi situati al disotto delle unghie. Per quanto abbia ricercato sui preparati di zampe di *Culex*, femmina e maschio, non sono mai riuscita a vedere due lobi così come sono stati disegnati da PATTON ed EVANS.

Dall'osservazione di numerosi preparati di zampe di *Culex* non mi risulta che esistano pulvilli sviluppati ed in forma di lobo carnoso così come sono stati raffigurati dagli autori suddetti.

Ho notato bensì nei *Culex*, ai lati del pretarso e ventralmente, due setole ramificate a base corta e grossa che sono evidentemente riferibili agli organi descritti come pulvilli nel genere *Aëdes* (vedi MARTINI « 11. u. 12.

Culicidae », Stuttgart 1931, pag. 6, fig. 10), ma che ne differiscono per il minore sviluppo complessivo. Ritengo che tali setole nei *Culex* possono interpretarsi come pulvilli assai ridotti. Nel genere *Anopheles* e precisamente in *Anopheles labranchiae* var. *atroparvus,* non sono riuscita a vedere traccia di tali organi e devo perciò concludere che nell'*Anopheles maculipennis* i pulvilli sono del tutto assenti.

Le mie conclusioni concordano dunque, per ciò che riguarda i pulvilli, con quelle di L. O. Howard, il quale non ammette la presenza di tali organi nelle Culicine.

Ringrazio la Prof.ssa La Face per l'aiuto prestatomi nel presente lavoro

RIASSUNTO

L'A. riporta la descrizione di un particolare organo presente nel pretarso dei *Culex pipiens autogenicus.*

RESUME'

L'A. reporte la description d'un organ particulier qui est présent dans le prétarse des *Culex pipiens autogenicus.*

SUMMARY

The A. reports the description of a peculiar organ present in the pretarsus of *Culex pipiens autogenicus.*

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. IX - N. 2 - Giugno 1948

RICERCHE SULL'ITTERO-EMOGLOBINURIA INFETTIVA *(ICTERO-HAEMOGLOBINURIA BOVUM)* NEGLI ANIMALI DOMESTICI IN BULGARIA

Dott. P. PAVLOV
Capo del servizio antiparassitario nell'Istituto Centrale veterinario batteriologico dello Stato - Sofia, Bulgaria

Nel 1944 nel Nord Ovest della Bulgaria, nella regione di Vidine, Belogradtschik e più lontano in Jugoslavia, nella regione di Zajtshar apparve una malattia, per la prima volta nel mese di agosto, che rassomigliava alla piroplasmosi. I veterinari locali la confusero con la piroplasmosi e la trattarono come tale, ma senza alcun risultato. La malattia fece numerose vittime, attaccando in principio il grosso bestiame e successivamente anche i montoni, le capre ed una volta anche il porco. Non si verificarono casi di malattia nel cavallo e nel cane.

In queste condizioni i veterinari furono costretti a rivolgersi alla Direzione Veterinaria. Io ho visitato la regione per studiare il problema e per proporre le misure destinate ad arginare la malattia. Durante la visita delle zone colpite ho potuto constatare che: 1) La malattia appare per la prima volta alla fine del mese di agosto. 2) Il numero degli animali colpiti aumenta via via che ci si allontana dalla stagione della piroplasmosi in Bulgaria. 3) La malattia colpisce nello stesso tempo differenti specie animali. 4) Sugli animali malati non si trovano zecche. 5) La terapia specifica per la piroplasmosi non dà alcun risultato. 6) Gli animali colpiti non mostrano elevazione di temperatura durante il decorso della malattia. 7) Si constata elevazione di temperatura prima della comparsa di altri sintomi clinici più appariscenti come l'emoglobinuria e l'ittero. 8) L'autopsia dei cadaveri del grosso bestiame non mostra l'aumento di volume della milza, constatazione ordinaria nelle piroplasmosi.

Le osservazioni esposte mostrano che in questo caso si tratta probabilmente di un'altra malattia; le ricerche microscopiche del sangue, costantemente negative per i piroplasmi, hanno confermato questa presunzione.

In queste condizioni ero obbligato a pensare ad una malattia nuova, non constatata ancora in Bulgaria ed introdotta durante la guerra per mezzo di animali importati o di una intossicazione alimentare. Contro questa ultima ipotesi parla l'epizootologia della malattia: 1. Molto spesso tra tre o quattro animali nutriti con lo stesso vitto soltanto uno o due contraggono la malattia. 2. All'autopsia degli animali morti le lesioni gastro-intestinali non depongono per una intossicazione. 3. Animali malati ed animali guariti nutriti con lo stesso vitto non contraggono la malattia. 4. Di animali di uno stesso villaggio o di villaggi differenti nutriti con lo stesso vitto solamente alcuni contraggono la malattia. 5. La malattia si riscontra sia su animali al pascolo, sia su animali nutriti con vitto sano.

In queste condizioni, tenuto conto che gli animali malati non mostrano aumento della temperatura durante la durata della malattia e la milza degli animali morti è normale, ho pensato che si trattasse in questo caso di una malattia nuova non constatata ancora in Bulgaria ed importata dall'estero.

Lo studio della letteratura mostra che una malattia simile, caratterizzata dalla scomparsa dell'alta temperatura dopo l'insorgere della emoglobinuria e la milza normale che si riscontra all'autopsia è constatata in U.R.S.S. fin dal 1934. Le osservazioni e le ricerche approfondite sulla malattia hanno mostrato che si tratta di una *Ittero-emoglobinuria infettiva.*

Le ricerche eseguite sull'introduzione della malattia in Bulgaria hanno mostrato che la malattia è importata con gli animali degli emigranti russi dell'Ucraina. Una parte degli animali di questi emigranti è rimasta in Bulgaria, nella regione menzionata, ed ha servito come focolaio di propagazione della malattia. La malattia è stata constatata nelle stalle e nei villaggi dove sono rimasti gli animali degli emigranti dell'Ucraina. In queste condizioni ha fatto una inchiesta per indagare se la malattia esistesse anche nelle altre regioni che avevano attraversato questi emigranti. L'inchiesta ha dimostrato che casi della malattia erano stati constatati nella città di Toutrakan e nel villaggio di Nova-Tscherna, zone attraversate dagli emigranti in questione con i loro animali.

Nomenclatura ed etiologia.

Nelle pubblicazioni degli Autori sovietici si trovano i nomi di *Icterus infectiosus bovum* ed *icterohaemoglobinuria bovum.* Avendo come criterio i sintomi clinici della malattia e gli animali recettivi al virus io penso che i nomi dati dagli Autori russi fino al 1946 non siano precisi e completi. I

sintomi clinici cardinali e tipici della malattia sono: l'*emoglobinuria* e l'*ittero*. La malattia colpisce: il bue, il montone, la capra, il porco, il cavallo ed il cane nello stesso tempo. Per di più si tratta di una malattia infettiva. In queste condizioni io penso che il nome più esatto e completo sia *ITTERO EMOGLOBINURIA INFETTIVA*. Io credo che il nome dato da me nella presente pubblicazione sarà impiegato in avvenire per indicare esattamente la malattia e differenziarla da altre simili malattie infettive. Può darsi che il nome *Leptospirosi* dato dagli autori russi nel 1946 sia più esatto.

I risultati di ricerche microscopiche, batteriologiche, culturali ed istologiche è stato negativo per la presenza di leptospire o di microbi patogeni. Sarebbe interessante cercare la spirocheta nel sangue durante il periodo febbrile e prima della comparsa dell'emoglobinuria. Le ricerche fatte in Russia nel 1946 attribuiscono grande importanza alla spirocheta come agente causale della malattia.

Animali recettivi.

Gli animali più recettivi alla malattia sono, oltre al grosso bestiame: il montone, la capra, il porco ed il cavallo. In Bulgaria ho constatato che la malattia ha avuto la maggior propagazione nel bue, ma la mortalità è stata maggiore nei montoni dove la forma clinica era più maligna. Casi isolati sono stati constatati nella capra ed un solo caso nel porco. Nessun caso è stato constatato nel cavallo e nel cane per quanto questo ultimo abbia avuto la possibilità di un grande contatto con animali malati e con cadaveri.

La malattia colpisce animali di tutte le età e di razze differenti. Come sopra ho ripetuto non ho constatato la malattia nei cani, ma ciò non vuol dire che la malattia non possa essere contratta dai cani in regioni ove la malattia esiste in forma più maligna di quella che sia stata in Bulgaria dove effettivamente la malattia è comparsa nella forma clinica più benigna. Non sono riuscito ad infettare gli animali di laboratorio come la cavia, il ratto ed il coniglio.

Sintomi clinici.

Non ho fatto delle ricerche sperimentali intese a stabilire il periodo di incubazione, ma secondo le mie osservazioni su animali colpiti da malattia in condizioni naturali, dopo essere stati in contatto con animali malati, penso che il periodo di incubazione vada da 8 a 15 giorni, almeno nella forma di malattia constatata in Bulgaria.

Ho constatato in Bulgaria solo: 1) la forma subacuta e 2) la forma rudimentale. La malattia è comparsa nella regione di Vidine durante il

periodo agosto-gennaio 1945 e nella regione di Belogradtschik in ottobre gennaio. Si è constatata ancora nella regione di Toutrakan. La tabella unita mostra le constatazioni dettagliate della malattia.

REGIONE	Malati		Morti		Morti %	
	Buoi	Montoni	B.	M.	B.	M.
Vidine	200	46	40	30	20	66
Belogradtschik . . .	111	25	14	20	12,7	80
Toutrakan	6	—	6	—	—	—

I primi casi di malattia sono stati constatati nel mese di agosto 1944. I casi di malattia aumentano avvicinandosi all'inverno e la maggior parte di animali malati è stata constatata in novembre-dicembre.

Forma subacuta. — I principali sintomi che si osservano in questa forma sono: l'emoglobinuria e l'ittero. E' stata osservata nelle vacche e nei buoi di età differente. E' stata la forma principale della malattia osservata in Bulgaria. La percentuale di mortalità varia da 12,7 a 20 % nei buoi e 66-80% nei montoni. I casi di malattia della forma seguente sono molto rari.

La malattia comincia con una modificazione dello stato generale dell'animale: diminuzione dell'appetito, sonnolenza, stanchezza. La temperatura arriva a 40-41,5° C. In queste condizioni compare l'emoglobinuria seguita dall'ittero. Dopo la comparsa dell'emoglobinuria la temperatura torna normale. L'emoglobinuria è manifesta da 3 ad 8 giorni. In caso di guarigione scompaiono l'emoglobinuria e l'ittero. La scomparsa dell'emoglobinuria è un sintomo favorevole per la guarigione. Le necrosi della pelle, osservate in questa forma da Semskov (1941), non sono state da me constatate. Ho osservato un solo caso di necrosi nel bue, ma localizzato sulle gengive e nella bocca solamente.

E' frequente la stipsi talvolta seguita da diarrea. Si osserva come regola una atonia dello stomaco e della peristalsi intestinale. Spesso l'animale fa degli sforzi per urinare. Il latte talvolta scompare. Il polso è accellerato, molle, ritmico e si sente l'apice del cuore. Il muso è secco e compare congiuntivite.

Forma rudimentale. — Questa forma è raramente osservata. Il sintomo principale è l'emoglobinuria. Anche questa forma è manifesta in animali di tutte le età. Si osservano le stesse manifestazioni generali, ma più attenuate; alcune possono mancare. L'appetito è conservato, la temperatura è normale o quasi. Talora i gangli inguinali sono aumentati, le mucose sono pallide e giallastre. Il muso è un poco secco. In queste condizioni è l'emoglobinuria che può orientarci. L'urina, da principio colorata in rosa di

viene in seguito più carica e nera come nella forma precedente. L'emoglobinuria dura secondo AVROROV (1941) da 3 a 4 giorni, ma io ho osservato dei casi in cui l'emoglobinuria è evidente durante 12 giorni. Nelle due forme i casi di recidive sono possibili e gli animali restano a lungo dimagriti. Il periodo di convalescenza è assai lungo dopo la malattia senza o con recidive. Non ho mai osservato la necrosi della pelle. La scomparsa dell'emoglobinuria è un sintomo favorevole per la guarigione.

I sintomi della malattia nel montone e nella capra sono gli stessi. Gli animali guariti sono probabilmente portatori del virus poichè la malattia è stata importata in Bulgaria dagli animali di emigranti che già avevano sopportato la malattia. Talvolta si osserva nella vacca l'aborto. L'aborto è più frequente nella pecora. Nel montone la malattia si sviluppa più rapidamente e la morte è più frequente. L'aborto appare 4-5 giorni dopo la comparsa dell'emoglobinuria. La morte sopraggiunge 6-7 giorni dopo la comparsa dell'emoglobinuria.

Modificazioni patologiche.

L'autopsia rivela prima di tutto la colorazione in giallo di tutti i tessuti e gli organi. Infiltrazione sierosa. Muscolatura pallida e colorata in giallo. Gli organi sono impregnati di pigmento biliare. Nel peritoneo si trova un trasudato di color rosso in quantità di circa 1 litro. Il rumine e le altre parti dello stomaco, i diverticoli gastrici contengono abbondante materiale alimentare piuttosto secco. Emorragie della grandezza di una lenticchia sulla mucosa gastro-intestinale. La milza è normale o leggermente ingrandita in qualche caso. I reni sono circondati da un infiltrato sieroso; il tessuto dell'organo è colorato in caffè o quasi in nero, con una tinta verdastra. Si osservano anche delle emorragie. La vescica urinaria è dilatata e contiene urina in quantità considerevole e colorata in rosso nerastro. Le ghiandole linfatiche sono quasi normali, ma rossastre e con emorragie.

L'organo più modificato è il fegato. E' aumentato di volume, di colore giallastro o ocra-giallastro e consistenza fragile. La vescichetta biliare è dilatata e riempita di bile di colore verde carico o caffè-nerastro; notevole è il contenuto di bile.

Nella cavità toracica si osserva liquido in quantità moderata. Il polmone è edematoso in qualche caso e mostra delle emorragie isolate. Il cuore è modificato, con delle emorragie considerevoli sull'epicardio. La muscolatura dell'organo è fragile.

Ricerche istologiche ed istopatologiche.

In ricerche eseguite su sezioni di cuore, di fegato, di milza, di reni, di polmone e di ghiandole linfatiche di cinque cadaveri freschi ho cercato,

con la tecnica di LEVADITI, la presenza di spirochete constatate da AVROROV (1941). Di ogni organo dei cinque cadaveri ho esaminato 20-30 sezioni. In queste ricerche eseguite molto scrupolosamente non ho constatato la spirocheta. Il risultato negativo è probabilmente dovuto al fatto che la ricerca è stata fatta qualche ora dopo la morte degli animali.

La ricerca istopatologica dimostra:

1. *Fegato*: infiammazione degenerativa, modificazione parenchimatosa con focolai necrotici nel parenchima e localizzati specialmente nei lobuli attorno alla vena centrale. Nell'interstizio: infiltrazione cellulare linfoide, che si manifesta come agglomerati diffusi o localizzati attorno ai vasi sanguigni.

2. *Reni*: quadro di una nefrite acuta sierosa. Infiltrazione sierosa nella cavità della capsula di BOWMANN e nel lume dei canalicoli ed infiltrazione linfoide circoscritta negli interstizi. Il lume dei canalicoli è occupato da una massa albuminoide granulosa e fine, con dei cilindri jalini rari.

3. *Cuore*: Nella muscolatura dell'organo si constata una degenerazione granulosa; negl'interstizi infiltrazione linfoide circoscritta; in alcune delle fibre necrosi di ZENKER.

4. *Milza*: La polpa è rossa, piena di sangue, raramente iperplasia follicolare; il numero dei follicoli è diminuito.

5. *Ghiandole linfatiche*: Stato di infiammazione sierosa acuta.

Le modificazioni istopatologiche constatate mostrano, come lo aveva detto AVOROROV (1941) che si deve fare la conclusione seguente:

1. L'ittero emoglobinuria infettiva deve essere inclusa nel gruppo delle malattie settico-tossiemiche.

2. I processi reattivi parlano a favore di una lunga intossicazione nell'organismo.

Diagnosi.

La diagnosi della malattia deve essere fatta sulle constatazioni seguenti:

1. La ricerca microscopica e l'assenza di piroplasmi negli strisci di sangue.

2. L'indagine patologica e le lesioni che si trovano all'autopsia: aumento e modificazioni del fegato, milza normale.

3. L'indagine clinica: emoglobinuria senza temperatura. La temperatura è constatata prima che appaia l'emoglobinuria.

4. La ricerca istologica e la presenza di spirochete.

5. La ricerca biologica.

6. Le constatazioni sull'epizootologia della malattia che è molto interessante.

Diagnosi differenziale.

La diagnosi differenziale deve essere fatta con la piroplasmosi e con l'intossicazione alimentare.

La differenza tra la piroplasmosi e l'ittero emoglobinuria è la seguente:

1. Gli animali ammalati di piroplasmosi mostrano una temperatura elevata durante tutto il decorso della malattia. La temperatura è normale nell'ittero emoglobinuria in periodi di emoglobinuria.
2. All'autopsia non si constata l'aumento di volume della milza.
3. La ricerca microscopica ha un valore definitivo.
4. La stagione in cui insorge la malattia e le specie di animali colpiti.

La differenza tra ittero emoglobinuria infettiva ed intossicazione alimentare è la seguente:

1. All'autopsia non si constatano le modificazioni di una intossicazione alimentare.
2. L'epizootologia della malattia mostra che si tratta di una malattia differente dall'intossicazione alimentare.
3. Si può constatare la malattia sui pascoli o nelle stalle. Molto spesso tra animali nutriti con lo stesso vitto 1 o 2 solamente contraggono la malattia.

Conclusioni.

1. Ho constatato per la prima volta in Bulgaria la malattia *Ittero-emoglobinuria infettiva*.
2. La malattia è constatata nei buoi, nel montone, nella capra e nel porco.
3. Essa colpisce gli animali di tutte le età, magri o grassi, sui pascoli o nelle stalle, al lavoro od in riposo.
4. La malattia è importata probabilmente dall'Ucraina per mezzo di animali emigrati.
5. La forma clinica della malattia è tipica ma senza necrosi della pelle.
6. Le modificazioni patologiche sono caratteristiche. La milza è normale.
7. Le condizioni predisponenti speciali sono necessarie probabilmente per l'invasione dell'organismo e la manifestazione clinica della malattia.
8. L'epizootologia della malattia è interessante e deve essere esaminata in dettaglio.
9. Gli animali guariti dalla malattia sono portatori per un periodo di tempo non ancora determinato.
10. Questo ultimo fatto è interessante dal punto di vista della epizootologia della malattia e deve essere esaminato più particolarmente come lo aveva fatto LJAPOVISTINE nel 1946.

RIASSUNTO

L'A. descrive una malattia infettiva del bestiame, apparsa per la prima volta in Bulgaria alla fine del 1944. L'osservazione dei caratteri epidemiologici, clinici ed anatomopatologici, consente all'A. di considerarla nosologicamente come una malattia ben distinta, non confondibile con le piroplasmosi ed identificabile invece con la ittero emoglobinuria infettiva. La malattia, secondo le constatazioni dell'A. è stata introdotta in Bulgaria dal bestiame infetto proveniente dall'Ucraina dove la esiste allo stato endemico.

RÉSUME'

L'A. décrit une maladie infective du bétail apparue pour la première fois en Bulgarie, à la fin du 1944. L'bservation des charactères épidémilogiques, cliniques et anatomopathologiques consentent à l'A. de la considérer nosologiquement comme une maladie bien distinguée, point à confondre avec les piroplasmoses et identificable au lieu avec la ictère hémoglobinurie infective. La maladie, selon les constatations de l'A. a été introduite en Bulgarie par le bétail infecte de provenance de l'Ucraine où elle existait à l'état endémique.

SUMMARY

The A describes a cattle infectious disease which appeared the first time in Bulgaria at the end of 1944. By the epidemiological, clinical and anatomo-pathological characters, the A observes that this disease cannot be confused with the piroplasmosis and that it snould be classified as an infective ictero-hemoglobinuria. This disease, as srown by the A., was imported in Bulgary from Ukraine where it exists in the endemic form

LETTERATURA

AVROROV A. A. (1938) *Trav. Acad. Agricul. U.R.S.S. Xe plen. sec. veter.* Moscou.
AVROROV A. A. (1941) *Zschr. Veterinkde.* 53. 32.
AVROROV et SEMSKOV (1937) *Sovetskaja Veterinaria*, 8, 65.
ANDREJEV K. P. (1939) *Trav. Acad. Agricul. U.R.S.S. Xe plen. veterin;* Moscou.
ANDREJEV K. P. (1940) *Wischeleski Epizootologie speciale*, Moscou.
ANDREJEV K. P. (1937) *Sovetska Veterinaria*, 2, 62.
DOROFEJEV K. (1937) *Ibid.* 8, 66.
FARSALIEV et CHALIMBEKOV (1939) *Trav. Acad. Agric. U.R.S.S. Xe plen. veter.* Moscou.
GUSSEV V. F. (1935) *Sovetska Veterinaria*, 2.
HUTYRA, MAREK, MANNINGER (1941) *Speziel Patolog. d. Haustiere*, 8.
LYAPOVISTINE A. K. (1944) *Veterinaria*, 12, 16.
LOUKALOV et SKAVISCH, (1946) *Sovetska Veterinaria*, 12, 17.
MECHTIEV M. A. (1937) *Ibid.* 2, 71.
MICHIN N. A. (1936) *Ibid.* 2, 23.
MICHIN et AGIMOV. (1935) *Ibid.* 10.
MICHIN et LEONOV, (1944) *Microbiologie Vétérinaire*, Moscou.
NIKOLSKI M. (1937) *Sovestka Veterinaria*, 5, 38.
NIKOLSKI et COL. (1935) *Ibid.* 10.
NIKOLSKI et COL. (1939) *Trav. Ac. Agric. U.R.S.S. Xe plen. sec. vétér.* Moscou.
ONOPRIENKO et DMITRIEV, (1935) *Sovestka Veterinaria*, 10.
PONOMARENKO et COL. (1936) *Ibid.* 5, 11.

Polikovski M. D. (1935) *Ibid. 10.*
Sakarjan et Agaronjan, (1937) *Ibid. 2,* 74.
Semskov M. V. (1939) *Trav. Ac. Agric. U.R.S.S. Xe plen. sec. vétér.* Moscou.
Semskov M. V. (1941) *Zschr. Veterinkde, 53,* 7.
Semskov M. V. (1946) *Veterinaria, 12,* 17.
Tarassov S. J (1937) *Sovestka Veterinaria, 2,* 10.
Terskich W. J. (1940) *Journ. Microb. Epidem. Immun. 8,* 66.
Terskich W. J. (1940) *Ibid. 8,* 69.
Blumemberg W. (1939) *Ergebnisse d. Hygiene, 22,* 168.
Knut u. Du Toit (1921) *Mense's Hdbuch Propkrankh. 6,* 543-581.
Mühlens P. (1930) *Hdbuch path. Mikrorg. Kolle-Kraus-Uhlenhuth, 7,* 2, 753.
Sobernheim G. (1930) *Ibid. 7,* 1, S. 1.
Uhlenhuth u. Fromme, *Ibid. 7,* 1, S. 487.
Zuelzer M. (1931) *Provazek's Hdbuch Path. Protozoen, 3,* 1627
Zurugoglu S. (1930) *Hdbuch Path. Mikroorg. Kolle-Kraus-Uhlenhuth, 7,* 813.
Doerr u. Hallauer, (1938) *Hdbuch d. Virusforschung, Wien.*
Gildemeister, Haagan u. Waldmann, (1939) *Hdbuch d. Viruskrankheiten.*
Neveu-Lemaire, (1943) *Traité de Protozoologie Médicale et Vétérinaire,* Paris.
Curasson G. (1943) *Traité de Protozoologie Vétérinaire,* Paris.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. IX - N. 2 - Giugno 1948

SU ALCUNI CASI DI MALARIA TRATTATI CON IL *PALUDRINE* (*)

Dr. S. BETTINI

Istituto Superiore di Sanità
Laboratorio di Malariologia — Capo: Prof. A. Missiroli

Riteniamo utile riportare i risultati ottenuti a Posada (Sardegna) durante il periodo 15 settembre-15 dicembre 1946 dal trattamento con Paludrine di un gruppo di recidive, in maggior parte infezioni da *P. falciparum*.

Si tratta di 112 casi, di ogni età e di ambo i sessi, dei quali 94 infezioni estivo-autunnali, 14 terzane benigne, una quartana e tre casi di infezioni miste (due quartana + terzana maligna ed una terzana ben. + terzana maligna). Tutti i casi avevano avuto precedenti attacchi di malaria durante il 1946. Abbiamo trattato esclusivamente i casi emoscopicamente positivi.

Metodo di somministrazione. — Il medicamento è stato somministrato di persona ad ogni singolo paziente, tre volte al giorno, secondo lo schema seguente, come suggerito dall'Imperial Chemical Industries Lt., che per prima manifatturò il prodotto.

Età	Dose	Somministrazioni
Sopra i 15 anni . .	100 mgr.	tre volte al dì
2-15 » . .	50 »	» » » »
1-2 » . .	10 »	» » » »
Sotto ad 1 anno . .	5 »	» » » »

(*) La realizzazione di questo lavoro è stata possibile grazie alla preziosa collaborazione della signorina F. Tedesco e del cav. F. Neri. Ringrazio il dott. L. Carru, ufficiale sanitario di Posada, per avermi agevolato nei contatti con la popolazione civile.

Numero dei casi di terzana che hanno avuto febbre durante il periodo di cura.

ETÀ	Numero dei casi trattati	Giorni di cura										Settimane di cura									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
0- 2 anni .	20	13	6	1							1	1	2						1	1	1
3- 4 » .	4	3	2																	1	
5- 8 » .	28	15	10	3	1					1		1						1	1	1	
9-12 » .	22	14	8	1															1		
13-15 » .	6	1	1																		
16-20 » .	6	3	2						1	1	1	1	1				1				
21-30 » .	4	2			1			1	1	1	1						1				
31 » .	4	1													1						
	Totale 94	52	29	5	2			1	2	3	3	3	3		1		2	1	3	3	1

La cura con 3 dosi quotidiane è durata 10 giorni; in seguito si è continuato a somministrare una dose, secondo l'annessa tabella, una volta alla settimana, fino al termine del nostro soggiorno. Il farmaco è stato somministrato la mattina verso le 8, a mezzogiorno ed alle 17. In qualche caso, per ragioni contingenti, abbiamo somministrato due dosi contemporaneamente. Sono stati presi in cura tutti i casi positivi man mano che si presntavano all'ambulatorio. Fra i pazienti, perciò, coloro che hanno iniziato per primi la cura hanno avuto un lungo trattamento, durato circa tre mesi; mentre coloro che si sono presentati verso la fine di novembre (l'ultimo caso ha iniziato la cura il 27 novembre) hanno avuto solo la cura di attacco di 10 giorni e la prima dose del trattamento settimanale. Quindi, secondo le tabelle accluse, molti dei casi trattati non sono stati seguiti da noi dopo i primi 20-30 giorni di cura. Non è detto, perciò, che questi non abbiano avuto febbre o parassiti nel periodo di tre mesi.

La ricerca emoscopica è stata eseguita quotidianamente nei primi giorni di cura ed in seguito ogni 2-3 giorni fino al periodo di cura settimanale, durante il quale il sangue è stato osservato solo nei casi che presentavano febbre. Perciò, all'assenza di parassiti asessuali e di gametociti dopo l'undicesimo giorno di cura non può essere dato un valore assoluto.

RISULTATI:

Terzana maligna. — Casi trattati: 94. In 77 casi la febbre è scomparsa entro 2 giorni dall'inizio della cura senza più riapparire per tutto il periodo del nostro soggiorno. In 17 casi si sono avute tipiche manifestazioni febbrili dopo i primi 5 giorni di cura, come riportato nell'acclusa tabella.

I parassiti asessuali non sono stati reperibili nel circolo periferico dopo 1-2 giorni dall'inizio della cura, eccetto che in 4 casi nei quali essi sono apparsi durante un accesso febbrile a distanza, sempre durante la somministrazione del medicamento.

Dei 94 casi di terzana maligna, 51 (53 %) dopo il 5° giorno di cura hanno mostrato semilune in circolo.

Terzana benigna. — Anche nei casi di terzana benigna la febbre e i parassiti asessuali sono scomparsi nel giro di due o al massimo tre giorni. In un solo caso il sangue è rimasto positivo per 4 giorni dall'inizio del trattamento ed in un altro caso si è avuto un accesso isolato di febbre nel quinto giorno di cura.

Quartana. — Il solo caso di quartana puro si è comportato diversamente dalle altre infezioni. Sebbene la febbre sia scomparsa dopo appena due giorni, i parassiti asessuali si sono mantenuti nel circolo periferico per ben 6 giorni.

Numero dei casi con parassiti asessuali emoscopicamente presenti nel sangue periferico durante il periodo di cura.

ETÀ	Numero dei casi trattati	Giornate di cura										Settimane di cura									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
0- 2 anni .	20	20	7																		
3- 4 » .	4	4	3	1																	
5- 8 » .	28	28	10	1																1	
9-12 » .	22	22	12	1	1							1							1		
1 -15 » .	6	6	—																		
16-20 » .	6	6	1	2		1											1				
21-30 » .	4	4	—																		
31 » .	4	4	—																		
	Totale 94	94	33	5	1	5						1					1		1	1	

Distribuzione dei casi di terzana maligna a seconda del periodo in cui è stato iniziato il trattamento.

Numero dei casi	30	36	5	0	0	0	0	13	8	2	0	0	Totale = 94
Periodo . . .	15-22	23-30	1-7	8-15	16-23	24-31	1-7	8-15	16-22	23-30	1-7	8-15	
	Settembre		Ottobre				Novembre				Dicembre		

Infezioni miste. — In tutti i casi di infezioni miste sia i parassiti che la febbre sono scomparsi dopo 1-2 giorni dall'inizio della cura.

Non si è avuto a verificare alcun disturbo in nessuno dei malarici in cui è stato somministrato il medicamento. Fra tutti gli individui trattati vi sono stati 6 casi di bambini sotto l'anno di età ed un caso di gravidanza al nono mese. In nessuno di essi abbiamo mai notato casi di intolleranza.

RIASSUNTO

L'A. riporta i risultati conseguiti dal trattamento con Paludrine di 112 casi di malaria recidiva, di cui 94 infezioni di terzana maligna, a Posada (Sardegna)

RESUME'

L'Auteur reporte les résultats obtainus à Posada (Sardaigne) par le traitement avec la Paludrine de 112 cas de paludisme récidive des quels 94 infections étaient à *P. falciparum*.

SUMMARY

The A. reports the results obtained at Posada (Sardinia) by the treatment with Paludrine of 112 cases of malaria relapses, 94 of which were M. T. infections.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. IX - N. 2 - Giugno 1948

RECENSIONI

GARNHAM P. C. C.: Exoerythrocytic schizogony in *Plasmodium kochi*, Laveran. A preliminary note. *Trans. of the Royal Soc. of Trop. Med. & Hyg.* 40, 719-722, 1947.

Come è noto, il *Plasmodium kochi* era fino ad oggi uno degli emosporidi meno conosciuti, in quanto erano stati riscontrati soltanto gametociti e anelli nei globuli rossi. L'agente trasmettitore è ignoto e finora nulla si sapeva sulla sede del ciclo schizogonico del parassita, malgrado varie ricerche fossero state fatte sulle scimmie del genere *Cercopithecus* che frequentemente albergano questo emosporidio.

In questa nota preliminare il GARNHAM riferisce su una serie di ricerche da lui compiute su un complesso di 22 scimmie esaminate post mortem e di cui furono studiati strisci e sezioni di cervello, milza, fegato, polmone, cuore, rene, ghiandole linfatiche, mesenterio e midollo osseo. Delle 22 scimmie 16 presentavano forme di *P. kochi* nel sangue periferico e 7 erano negative.

L'attenzione dell'A. è stata attratta da un reperto che era presente in 15 delle 16 scimmie infette ed era assente nelle 7 scimmie negative. Tale reperto era costituito da particolari lesioni osservabili sulla superficie e nell'interno del fegato come piccole macchie bianche o translucide. Queste macchie, il cui diametro massimo riscontrato fu di 2 mm., variarono di numero nelle diverse scimmie da una a più di cento, benchè di regola il loro numero fosse limitato a circa dieci. Il colore bianco o translucido delle macchie, che risultarono all'esame istologico essere vere e proprie merocisti, è indizio di differente stadio nello sviluppo del parassita. Le cisti translucide sono lievemente sporgenti sulla superficie del fegato e quando vengano incise da esse fuoriesce un liquido incolore.

Gli strisci fatti dalle merocisti e colorati con il Romanowsky hanno un aspetto caratteristico. In essi si vedono merozoiti rotondi o ovali che sembrano apparentemente costituiti di sola cromatina sparsi in numero enorme ovunque nello striscio: si vedono inoltre schizonti di dimensioni variabili da un piccolo corpo ovale lungo 4 micron a grandi masse irregolari lunghe 40 e più micron. Nelle forme più giovani e più piccole il citoplasma è denso e di un colore blu intenso e in esso si osservano i nuclei colorati in rosso. A mano a mano che lo sviluppo procede il citoplasma diviene più fine, più tenuamente colorato e a maturazione compiuta scompare quasi del tutto.

Le sezioni in serie dei focolai nel fegato dimostrano che in un primo tempo c'è una moltiplicazione schizogonica di tipo citomerico quale quella osservabile nell'*Haemoproteus*. Successivamente intorno ai citomeri si forma una parete cistica che racchiude una cavità piena di liquido e di merozoiti e citomeri in moltiplicazione schizogonica.

Secondo l'A. l'ospite reagisce nei primi stadi localmente con afflusso di leucociti polimorfonucleari, che possono anche aver ragione del parassita e farlo scomparire in quello che l'A. chiama un piccolo ascesso. Se il parassita prosegue nello sviluppo, la parete cistica che è di struttura ialina appare circondata da uno strato di fibroblasti e cellule giganti.

In questa nota preliminare l'A. dice che l'inizio e la fine del ciclo sono tuttora sconosciute, ma che sembra probabile che ciascuno dei descritti focolai rappresenti il prodotto di moltiplicazione di un singolo sporozoita o merozoita, e che i

merozoiti delle cisti mature sono in tale intimo contatto con il tessuto epatico da poter agevolmente passare nella circolazione ove evolvono in gametociti nei globuli rossi.

Lo scrivente ha avuto occasione di esaminare una sezione di merocisti matura riportata dal dr. GRAMICCIA che aveva recentemente incontrato il dr. GARNHAM a Londra, e può confermare sia l'esattezza del reperto come la natura sporozoaria della cisti. Dallo stesso dr. GRAMICCIA lo scrivente ha avuto la notizia che indagini successive alla pubblicazione della nota preventiva eseguite con il GARNHAM da un protozoologo dell'autorità di WENYON hanno condotto a determinare che l'inizio dello sviluppo avviene *nell'interno di una cellula epatica parenchimale.*

Segnaliamo la grande importanza di questa ricerca che è la prima che getti luce sullo sviluppo di un emosporidio in cellule parenchimatose.

A. CORRADETTI

MER G. G. e GOLDBLUM N.: A Haemosporidian of bats. *Nature*, *159*, 444, 1947.

Gli AA. riferiscono di aver ricercato parassiti malarigeni in pipistrelli appartenenti a dieci diverse specie e di averne rinvenuti in individui delle specie *Myotis myotis*, *Myotis nattereri* e *Miniopterus schreibersi*. Fu osservata la flagellazione dei microgametociti in camera umida.

L'esame degli organi interni rivelò in un *Myotis myotis* un'intensa schizogonia in cellule reticolari e della serie granulocitica nel midollo osseo, come pure in macrofagi fissi e mobili dei polmoni, reni e fegato. Simili forme schizogoniche furono osservate libere in strisci di rene e fegato di un *Myotis nattereri*.

I pipistrelli esaminati erano infestati da *Nycteribiidae* appartenenti a varie specie non ancora identificate. In uno di questi insetti ematofagi furono riscontrati sporozoiti nelle ghiandole salivari. (Lo scrivente nel 1933 osservò occasionalmente uno stomaco con due cisti riferibili a un emosporidio in un *Nycteribiidae* della specie *Listropodia schmidli* nella Campagna Romana, ma essendo il reperto stato unico non ne aveva finora mai riferito).

Questa comunicazione assume particolare interesse perchè è la prima segnalazione dello sviluppo di un emosporidio dei mammiferi in cellule del reticolo endotelio e in cellule della serie bianca, e per la dimostrazione delle affinità dei parassiti malarigeni dei pipistrelli con le specie del genere *Haemoproteus*.

A. CORRADETTI

SHORTT H. E. e GARNHAM P. C. C.: Pre-erythrocytic stage in mammalian malaria parasites. *Nature*, *161*, 126, 1948.

SHORTT H. E., GARNHAM P. C. C. e MALAMOS B.: The pre-erythrocytic stage of mammaliam malaria. *Brit. Med. Journal* 192-194, 1948.

In questi due brevi lavori di cui il primo è la nota preliminare del secondo, gli AA. comunicano quella che è la scoperta più importante compiuta sul ciclo dei parassiti malarigeni dei mammiferi dopo il tempo di GRASSI.

Gli AA. hanno allevato oltre 1.000 *Anopheles atroparvus* femmine e le hanno fatte pungere su una scimmia che aveva nel sangue periferico gametociti maturi di *Plasmodium cynomolgi*. Le stesse zanzare furono successivamente nutrite su un'altra scimmia infetta e infine una terza volta sulla scimmia originaria. L'intervallo tra il primo e il terzo pasto fu di undici giorni. Le zanzare furono mantenute a 26° e a un'umidità relativa di circa l'80 %.

Dieci giorni dopo l'ultimo pasto infettante 20 zanzare furono dissezionate e trovate infette senza eccezione: la massima parte di esse presentavano numerosissimi sporozoiti nelle ghiandole salivari. In quello stesso giorno le sopravviventi, in numero di 576, furono poste a pungere su un *Macacus rhesus* non mai infettato: punsero oltre 500 anofeli. L'intero lotto di zanzare fu allora posto in un mortaio contenente 10 cc. di plasma di scimmia eparinizzato diluito con soluzione

fisiologica. Metà della sospensione fu inoculata per via intraperitoneale e l'altra metà per via intramuscolare alla stessa scimmia. L'animale fu sacrificato dopo sette giorni e fu compiuta una completa necroscopia.

I tessuti esaminati furono i seguenti (in striscio, sezione, o ambedue): milza, fegato, rene, surrenale, pancreas, intestino tenue, linfoghiandole di varie parti dell'addome, aorta, vena cava inferiore, essudato peritoneale, peritoneo, polmoni, cuore, ghiandole toraciche, midollo osseo, cervello, muscoli della gamba, pia madre, omento. Furono compiute subinoculazioni in altre scimmie indenni con sospensioni dei seguenti tessuti della scimmia sacrificata: fegato, milza, cervello, polmone, rene, liquido peritoneale, sangue del cuore. Nessuna delle scimmie subinoculate appariva infettata un mese dopo l'inoculazione.

Gli AA. avvertono di non avere al momento della pubblicazione del loro lavoro potuto esaminare completamente tutti i tessuti prelevati, ma che il primo esame ha permesso di rilevare la presenza dei parassiti nel solo fegato. Nelle sezioni di fegato esaminate (colorazione Giemsa) si osservano con l'obiettivo 2/3 piccole aree di color blu e di forma in genere ovale. In una tipica sezione di 90 mm. quadrati si osservavano 36 di tali aree. I parassiti misurano in media nel diametro più lungo 26 micron, ma possono giungere a 30 micron e più.

Esaminate a più forte ingrandimento tali aree blu appaiono essere masse schizogoniche di plasmodi. Il citoplasma si colora in blu cobalto e ha un'apparenza semireticolata opaca, mentre le particelle di cromatina sono colorate in rosso magenta. Nella maggioranza dei parassiti non c'è evidenza di condensazione del citoplasma intorno alle masse di cromatina, ma in alcuni casi in sezioni tagliate allo spessore di 2 micron c'è una chiara indicazione di un processo di formazione dei merozoiti. Secondo gi AA., poichè i parassiti appaiono nel sangue circolante al nono giorno, appare evidente che la produzione dei merozoiti deve avvenire all'ottavo giorno e che le forme nel fegato da essi rinvenute debbono essere i primi stadi del processo, Per la stessa ragione essi concludono che la maggioranza delle forme nel fegato sono da interpretarsi come pressochè mature e nello stadio immediatamente precedente la formazione di merozoiti.

In un notevole numero di schizonti sono presenti uno, due o anche più vacuoli che tendono ad essere tanto più piccoli quanto più sono numerosi. E' veramente difficile, secondo gli AA., determinare il numero dei nuclei nelle sezioni seriali, ma dagli strisci hanno potuto stimare il loro numero in 200-300 per ogni schizonte.

Gli schizonti sono totalmente privi di pigmento.

Riguardo alla *sede istologica* dei parassiti nel tessuto epatico gli AA. in queste note preliminari scrivono che senza voler essere dogmatici hanno l'impressione che i parassiti sono contenuti *nelle cellule del parenchima epatico*, e che questa opinione è rinforzata dalla apparenza nelle sezioni colorate con il metodo di Gömöri per le fibre reticolari.

Lo scrivente ha avuto agio di esaminare una sezione di fegato relativa a questo esperimento, gentilmente inviata dal dr. GARNHAM al Laboratorio di Malariologia dell'Istituto Superiore di Sanità, e può confermare che le forme parassitarie da lui rinvenute nel preparato erano contenute in *cellule del parenchima epatico*.

A tutti appare la grandissima importanza del rinvenimento di forme schizogoniche di un plasmodio (e di un plasmodio dei mammiferi) *in questa nuova e finora insospettata sede istologica.*

I risultati di queste ricerche offrono una prova ulteriore di quanto lo scrivente ebbe a sostenere in un lavoro del 1938 (*Rivista di Parassitologia*, 2, 23-37, 1938) e in numerose pubblicazioni successive, e cioè che *non esiste negli Emosporidi uniformità di comportamento delle varie specie rispetto ai tipi di cellule in cui si compie il ciclo schizogonico. Cadono quindi definitivamente le teorie di* JAMES, RAFFAELE, KIKUTH e MUDROW *che davano per necessario lo sviluppo di tutti gli emosporidi nelle cellule dell'apparato reticolo endoteliale.*

Lo sviluppo del *P. cynomolgi* nel tessuto epatico e precisamente *in cellule del parenchima epatico* è una dimostrazione di più delle fortissime affinità esistenti tra gli Emosporidi e i Coccidi.

E' evidente che, come ho a lungo sostenuto nelle mie pubblicazioni sul ciclo

schizogonico degli Emosporidi, è necessario continuare le ricerche *specie per specie*, fino a giungere ad avere una somma di cognizioni analiticamente acquisite, che sia sufficiente a permettere una sintesi nel difficile capitolo della classificazione del gruppo Emosporidi-Coccidi, le cui suddivisioni erano finora in gran parte basate sul fattore della sede del ciclo schizogonico, ormai dimostratosi troppo variabile.

A. CORRADETTI

SHORTT H. E., GARNHAM P. C. C. e COVELL G.: The pre-erythrocytic stage of human malaria, *Plasmodium vivax. Brit. Med. Journ.* 547, 1948.

Dopo il reperto di forme schizogoniche del *P. cynomolgi* nelle cellule parenchimali del fegato delle scimmie inoculate con sporozoiti, appariva necessario tentar di verificare se un simile sviluppo si producesse nel *P. vivax* dell'uomo che è per morfologia e ciclo di vita molto simile al *P. cynomolgi*.

Gli AA. hanno quindi compiuto un esperimento su un soggetto che aveva necessità di esser sottoposto a malarioterapia. In due giorni successivi il paziente fu sottoposto alle punture di un gran numero di *A. atroparvus* infettati con *P. vivax* e alla inoculazione intravenosa di ghiandole salivari isolate da un certo numero delle stesse zanzare.

Sette giorni dopo le prime punture il chirurgo RADLEY SMITH eseguì una biopsia sul fegato con analgesia locale. Il materiale prelevato, esaminato in sezioni rivelò la presenza di masse plasmodiali con nuclei in schizogonia del tutto simili in apparenza a quelle viste precedentemente nel caso di infezione della scimmia con *P. cynomolgi*. Le forme osservate misuravano fino a 42 micron di diametro e dimostravano in qualche caso i vacuoli osservati nelle forme corrispondenti di *P. cynomolgi*.

Secondo gli AA. non c'è dubbio che questi corpi sono le forme pre-eritrocitiche del *P. vivax* nell'uomo. Il materiale è ancora in studio e gli AA. promettono nuove comunicazioni non appena completate le osservazioni.

Nella loro comunicazione gli AA. non accennano alla sede istologica delle forme schizogoniche, benchè l'affermazione di una esatta somiglianza con le forme descritte nel *P. cynomolgi* faccia presumere che anche nel *P. vivax* lo sviluppo avvenga nelle cellule parenchimatose epatiche. Se questo fatto verrà accertato, cadrà definitivamente la teoria di uno sviluppo del *P. vivax* nelle cellule dell'apparato reticolo endoteliale: teoria che fu troppo facilmente enunciata e, ciò che è peggio, ancor più facilmente accettata, senza prove sperimentali, da gran parte del mondo medico.

A. CORRADETTI

BENNETT A. H., JUPNIK H., OSTERBERG H. e RICHARDS W.: Phase Microscopy. *Trans. Amer. Micros. Soc.*, 65, 99-131, 1946.

Fino ad oggi il ricercatore si è trovato davanti ad un problema di microscopia che non poteva risolvere con i mezzi ottici di cui disponeva, che in parte ed inadeguatamente.

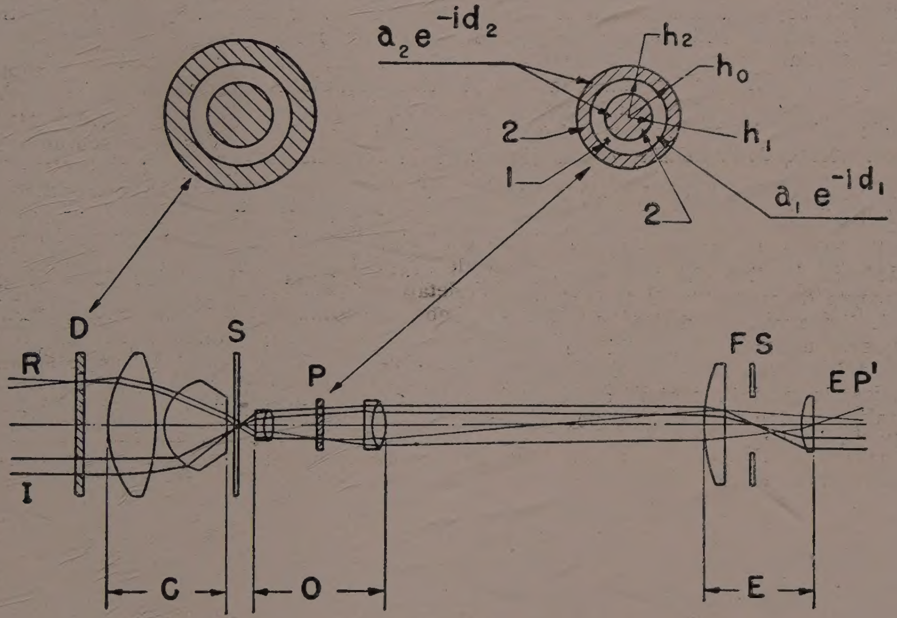
Il microscopio che viene abitualmente usato nei laboratori, fornisce degli oggetti in osservazione un'immagine che è dovuta alla differenza di intensità nei vari punti del fascio luminoso, che si producono a causa della presenza dell'oggetto da osservare sul cammino del fascio medesimo.

Quando l'oggetto da osservare è talmente sottile che in ogni suo punto risulta praticamente del tutto trasparente al fascio di luce che dovrebbe formare un'immagine, l'osservatore è costretto o a impregnare l'oggetto di una sostanza (colorante) che, aumentandone la densità, lo renda più opaco, oppure ad osservare di esso una immagine data non più da diversità di opacità dell'oggetto rispetto al fondo, ma dalla diffusione della luce da parte dell'oggetto il quale viene perciò a comportarsi

esso stesso come una sorgente luminosa della quale il microscopio forma una immagine ingrandita osservabile nel modo normale: a questo scopo l'oggetto viene illuminato con raggi molto inclinati, in modo cioè che essi non possano raggiungere direttamente l'occhio dell'osservatore (osservazione in campo oscuro).

Il primo di questi sistemi altera l'oggetto, cosicchè l'immagine che si osserva non può essere fedele; il secondo fornisce dell'oggetto un'immagine molto indefinita.

Nel microscopio a contrasto di fase la difficoltà viene girata nella maniera seguente: un oggetto che sia praticamente del tutto trasparente al fascio luminoso, cioè che non introduca in esso variazioni di intensità sensibili, può essere messo in evidenza a causa delle differenze di indice di rifrazione nei sui vari punti, le quali producono delle differenze di cammino ottico nei vari punti del fascio. A queste differenze di cammino ottico il nostro occhio non è sensibile: per metterle in evidenza bisogna perciò tramutarle in differenze di intensità luminosa (cioè di ampiezza dell'onda). Il microscopio a contrasto di fase contiene appunto un dispositivo atto a compiere questa trasformazione: per tutte le altre sue parti esso è identico al microscopio comune, cosicchè un qualsiasi microscopio può essere trasformato in uno a contrasto di fase se si aggiunga il dispositivo suddetto.



Tale dispositivo consiste in pratica di due parti:

1) un diaframma perfettamente opaco che lascia libera al passaggio della luce solo una regione a forma di anello, il quale viene posto tra la sorgente di luce e il condensatore: questo diaframma limita perciò la sezione del fascio luminoso a una regione anulare e tutto avviene come se il diaframma, o meglio la sezione illuminata che esso definisce, fosse la sorgente luminosa del microscopio;

2) un diaframma trasparente, fatto in modo che produce un ritardo di fase di circa 1/4 di lunghezza d'onda tra la fase della luce che forma l'immagine del primo diaframma e quella che è stata diffratta dall'oggetto e che passa per la rimanente area dell'apertura dell'obbiettivo. Questo secondo diaframma è perciò anch'esso di forma anulare, ed è costituito di un deposito sottile, per es. metallico, fatto su un vetrino a facce piane e parallele, che lasci libera una regione anulare tale che possa coincidere esattamente con l'immagine del 1° diaframma, quando venga messo in posizione opportuna.

Il cambiamento della differenza in cammino ottico in differenza di ampiezza, cioè di intensità dei vari punti del fascio luminoso, viene prodotto per interferenza della luce che si parte dal 1° diaframma e attraversa l'anello libero del 2°, e quella diffratta dall'oggetto che passa attraverso la rimanente parte del 2° diaframma (che produce come abbiamo detto, il ritardo di circa 1/4 di lunghezza d'onda).

Nella figura è lo schema del microscopio a contrasto di fase realizzato dagli AA. *D* è il 1° diaframma e *P* il 2°, e le loro immagini sono a parte disegnate viste di fronte.

A seconda dell'oggetto da osservare può convenire di usare, per il diaframma *P*, depositi più o meno sottili, cioè che introducano differenze di fase più o meno grandi, ma sempre prossime a 1/4 λ, e può anche essere utile usare un diaframma *P* a regioni invertite, cioè avente il deposito sulla regione anulare anzichè sulla rimanente. Gli AA. danno tuttavia, per gli usi più correnti il tipo di diaframma più idoneo.

L'utilità pratica di questo nuovo sistema ottico, non ancora entrato nell'uso corrente, sembra estendersi in campi molto vasti. Nell'industria esso può essere applicato nello studio delle superficie levigate (vetro, metalli, ecc.) e nei processi ove è necessaria una accurata valutazione dell'indice di rifrazione; nel campo delle emulsioni, ecc. Nell'esame dei commestibili è utile per la ricerca di contaminazioni, ecc. Nel campo della geologia, come osservazione complementare alla microscopia col polarimetro. Ma di grande importanza ci sembra questo nuovo metodo nel campo medico-biologico perchè continuamente si presenta la necessità di dover trattare organismi viventi con sostanze che rendono visibili i contrasti fra le loro parti. Per studiare la fine struttura cellulare della sostanza vivente e rendersi conto di quale sia la sua forma reale, si è soliti fissare e colorare il materiale poichè l'osservazione a fresco non mette in evidenza certi particolari. La morte stessa delle cellule, e maggiormente la loro fissazione, porta modificazioni tali da rendere artificiali tutti i rapporti fra gli elementi che le costituiscono. Se aggiungiamo a queste le alterazioni cellulari provocate dal passaggio del materiale biologico attraverso una serie di sostanze chimiche costituite da fissatori, mordenti, coloranti, differenziatori, ecc., ci convinceremo che ciò che l'osservatore vede non è altro che una poco fedele immagine della cellula viva. Con la microscopia di contrasto di fase si potrà fare a meno di questi mezzi e ci sarà possibile l'osservazione diretta dei più delicati contrasti del materiale a fresco. Oltre a questo esempio, numerosi ne potremo citare, nel campo della diagnostica batteriologica, nella fisiologia ecc., che mettono in rilievo l'importanza di questa nuova tecnica, la portata pratica della quale ognuno può immaginare, poichè essa apre un altro campo di indagine per il biologo e potrà contribuire a semplificare i metodi diagnostici.

A. Bocciarelli

Prof. A. MISSIROLI, *Direttore responsabile*

Soc. An. Poligrafica Italiana — Roma, Via della Guardiola, 22